

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, B. C.**



**Programa de Posgrado en Ciencias
en Acuicultura**

**Epizootiología de la Perkinsosis del ostión de placer
Crassostrea corteziensis en el estado de Nayarit (2007-2014)**

TESIS

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Presenta:
Luis Humberto Madero López

Ensenada, Baja California, México
Septiembre 2015

Tesis defendida por
Luis Humberto Madero López
Y aprobada por el comité

Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez

Director del comité

Dr. Miguel Ángel del Río Portilla

Dra. Rebeca Vásquez Yeomans

Dra. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez

Dra. Bertha Eugenia Lavaniegos Espejo



Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Coordinador del posgrado en Acuicultura

Dr. Jesús Favela Vara
Director de estudios de posgrado

Luis Humberto Madero López © 2015

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor

Resumen de la tesis que presenta **Luis Humberto Madero López**, como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Epizootiología de la Perkinsosis del ostión de placer *Crassostrea corteziensis* en el estado de Nayarit (2007-2014)

Resumen aprobado por:

Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez
Director de tesis

Crassostrea corteziensis se ha cultivado de manera artesanal en los Estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit a partir de la captación de semilla del medio natural impulsando una actividad económica importante. Uno de los agentes patógenos que afectan a esta especie es *Perkinsus marinus* el cual ha tenido un impacto negativo en la producción del ostión americano *Crassostrea virginica* en la costa este de EUA y actualmente está considerado por la Organización Mundial de Sanidad Animal como agente patógeno de declaración obligatoria. Aún no se ha establecido con claridad qué papel desempeña este parásito en el desarrollo y sobrevivencia en las poblaciones de cultivo de *C. corteziensis*. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar los principales parámetros epizootiológicos como son la estacionalidad de la infección y la relación de la prevalencia e intensidad de *P. marinus* con la temperatura, salinidad, talla y sexo del hospedero. Se llevó a cabo un análisis de los datos de prevalencia, temperatura y salinidad, los cuales fueron previamente obtenidos mensualmente en Boca de Camichín y Pozo chino, Nayarit en el periodo de enero 2007 a noviembre 2014 analizando un total de 7,700 ostiones y se compararon gráficamente los resultados, realizando el análisis estadístico correspondiente. Se encontró un patrón estacional de la infección, común para ambas localidades, que alcanzó sus máximos niveles en verano (<40%) y los mínimos en invierno (<6%). Los niveles de intensidad, ligera y moderada, siguieron este mismo patrón, mientras que la intensidad severa se mantuvo por debajo del 10%. No se observaron mortalidades inusuales de *C. corteziensis* asociadas con la prevalencia e intensidad de *P. marinus*. Se encontró una mayor prevalencia e intensidad ligera y moderada en ostiones mayores a 5 cm mientras que la intensidad severa fue mínima sin asociarse a la talla. Se observó una mayor prevalencia en las hembras con relación a los machos. Se observó un aparente ciclo tetranual en el patrón de prevalencia con tendencia al aumento que pudiera estar asociado con fenómenos ambientales de mayor envergadura como el fenómeno de El Niño. Sin embargo, este aspecto debe ser estudiado a más largo plazo. Los resultados obtenidos sustentan la menor susceptibilidad de *C. corteziensis* a *P. marinus* así como un patrón epizootiológico diferente al reportado para *C. virginica* y *P. marinus* en la costa este de EUA, sugiriendo una interacción de la triada epidemiológica particular de la zona de estudio.

A partir de esta información se obtuvo el corredor o canal endémico para la zona de estudio, mismo que permite predecir los casos esperados a lo largo del año y, por tanto, establecer medidas oportunas de control. Es importante destacar que a pesar de que no

se han registrado mortalidades inusuales directamente relacionados con *P. marinus*, no se debe descartar que en un futuro los niveles de prevalencia e intensidad de este parásito cambien debido al escenario de calentamiento global al que nos estamos enfrentando.

Palabras clave: *Crassostrea corteziensis*, *Perkinsus marinus*, análisis epizootiológicos, perkinsosis.

Abstract of the thesis presented by **Luis Humberto Madero López** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in aquaculture.

Epizootiology of Perkinsosis in the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* in the state of Nayarit (2007-2014)

Abstract approved by:

Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez
Thesis director

Crassostrea corteziensis has been cultivated in an artisanal manner in the states of Sonora, Sinaloa and Nayarit from the capture of wild seed from the environment promoting an important economic activity. Several agents have been described that cause infectious diseases that affect this specie of oyster from which *Perkinsus marinus* has been taken into special interest due to its negative impact in the production of the American oyster *Crassostrea virginica* in the east coast of the USA and nowadays it is considered as a pathogen of obligatory declaration by the World Organization of Animal Health. To this day the roll that this parasite plays in the development and survival of culture populations of *C. corteziensis* has not been clearly established. Therefore, the objective of this study was to determine the main epizootiological parameters such as the seasonality of the infection and its relationship with the prevalence and intensity of *P. marinus* with temperature, salinity, size and sex of the host. For this study an analysis of the prevalence data, temperature and salinity, which were previously obtained monthly out in Boca de Camichin and Pozo Chino in Nayarit in the period January 2007 to November 2014 analyzing 7,700 oysters. For the data analysis the results were graphically compared and the corresponding statistical tests were conducted. An association was found between the higher prevalence and infection intensity with the summer seasons when temperature was at its highest reaching up to 30 °C and salinities were at their lowest, reaching 4 PSU, furthermore a higher degree of infection intensity was found in females and oysters larger than 5cm. From this information an endemic channel was obtained for the study area, this channel will allow the prediction of the expected number of cases though out the year therefore it will also allow the establishment of timely control measures. It is important to highlight that although no unusual mortalities have been recorder that are directly related with *P. marinus*, it must not be ruled out that in the future the levels of prevalence and infection intensity could change due to the current global warming scenario we are facing.

Keywords: *Crassostrea corteziensis*, *Perkinsus marinus*, epizootiological analysis, perkinsosis.

Dedicatoria

Quiero dedicarles esta Tesis a mis padres, Celsa Amalia y José Luis, por haberme formado y haber creído siempre en mí, ya que en ellos siempre he encontrado el apoyo en todas las situaciones de la vida, de no ser por ellos no podría haber llegado a ser la persona que hoy soy.

A mis hermanas, Celsa Daniela y Diana Luisa por estar siempre y en todo momento, con quienes he recorrido la vida y he aprendido grandes cosas, pero sobre todo quiero agradecer a mi hermosa hermanita Jesús Angélica, que desde el momento que llegó a este mundo ha sido mi motor e inspiración para seguir adelante en esta larga carrera que es la vida.

Y por último pero no menos importante a mi compañera y amiga, Anayeli Quintana, que durante todos estos años de estar juntos me ha enseñado a valorar que todas las cosas buenas de la vida no son fáciles de conseguir, por estar siempre conmigo en los momentos buenos, malos y peores.

Agradecimientos

Gracias,

Al Comité Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por otorgarme la beca de maestría.

Un especial agradecimiento al CICESE, por haberme aceptado en su selecto programa de posgrados y por su apoyo económico para la culminación de este trabajo.

A la M. C. Verónica Aguilar Medina y a la Oceanóloga Gloria Padilla Lardizábal del Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit, por su gran contribución en el aporte de las muestras y bitácoras de registros ambientales.

Al Instituto de Sanidad Acuícola (ISA A.C.), por el apoyo en el procesamiento de las muestras y el aporte de las hojas de diagnóstico.

A la M. C. Yanet Guerrero Rentería por sus enseñanzas de las técnicas histológicas y de diagnóstico, las cuales fueron de gran importancia en mi formación académica.

A mi amigo y compañero, el M. C. Roberto Cruz Flores, por su apoyo en todas las pequeñas y grandes dudas que surgieron durante esta estancia, así como por su colaboración en la traducción del resumen.

Gracias a la Dra. Beatriz Cordero Esquivel por sus consejos, amistad y apoyo académico en todo momento.

A mi profesor en diferentes áreas el Dr. Manuel Segovia Quintero, por sus grandes enseñanzas acuícolas, por compartir todas sus experiencias laborales y ser un excelente guía y amigo.

A la Dra. Marysabel Báez Hidalgo, por su gran apoyo y guía en los análisis estadísticos de esta tesis.

Un agradecimiento a todos mis profesores, Miguel Ángel del Río, Fabiola Lafarga, Juan Pablo Lazo, Oscar del Río, Mónica Hernández y José Espinoza, a todos ellos por ser grandes profesores y por haber contribuido en mi formación académica y personal.

A la Dra. Rebeca Vásquez Yeomans, por su paciencia y apoyo en todas las fases de esta investigación.

A todos mis compañeros de generación en los que he encontrado el apoyo y consejos para poder seguir adelante.

Quiero agradecer a mis sinodales Miguel Ángel Del Río, Rebeca Vásquez Yeomans, Carmen Paniagua y Bertha Lavaniegos, por sus consejos y observaciones en este trabajo.

Gracias a un gran amigo de toda la vida, Valentín Carrillo, con el que he compartido grandes momentos de la vida y siempre he contado con su apoyo incondicional en las buenas y en las malas.

Finalmente y sobre todo quiero agradecer a una gran persona e investigador que fue la parte más importante para que todo esto fuera posible, a mi Director de Tesis Dr. Jorge Cáceres Martínez, que mediante su gran apoyo, paciencia, esfuerzo y dedicación ha permitido la culminación de este trabajo, gracias a sus conocimientos, manera de trabajar, su orientación y sobre todo su extrema paciencia ha sido una parte fundamental para mi formación académica, ya que él ha inculcado en mí el sentido de la responsabilidad, seriedad y sobre todo del trabajo, que muy a su manera ha sido capaz de ganarse mi admiración y confianza, así como el sentirme en deuda con él por toda su dedicación durante todo el tiempo que ha durado esta Tesis de Maestría.

Tabla de contenido

Resumen en español	ii
Resumen en inglés	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Lista de figuras	x
Lista de Tablas	xii
Capítulo 1. Introducción	1
1.1.- Importancia y generalidades del ostión de placer <i>Crassostrea corteziensis</i>	1
1.2 Principales enfermedades de <i>C. corteziensis</i>	1
1.3 <i>Perkinsus marinus</i>	2
1.4 Epizootiología de <i>P. marinus</i>	4
1.5 Influencia de la temperatura y la salinidad en la perkinsosis	5
1.6 La edad y la resistencia de <i>C. corteziensis</i> a la perkinsosis	5
Capítulo 2. Justificación	7
2.1.- Justificación	7
Capítulo 3. Hipótesis	8
3.1.- Hipótesis	8
3.2.- Objetivo general	8
3.3.- Objetivos particulares	8
Capítulo 4. Materiales y métodos	9
4.1.- Trabajo previo de muestreo y recopilación de datos	9
4.2.- Análisis histológico	9
4.3.- Elaboración de la base de datos	10
4.4.- Determinación de la prevalencia e intensidad de <i>P. marinus</i>	10
4.5.- Asociación de la talla con la infección por <i>P. marinus</i>	12
4.6.- Prevalencia e intensidad de <i>P. marinus</i> por mes en Boca de Camichín y Pozo Chino. .	12
4.6.2- Prevalencia e intensidad de <i>P. marinus</i> por año en Boca de Camichín y Pozo Chino.	12
4.7.- Prevalencia e intensidad de <i>P. marinus</i> por sexos en <i>C. corteziensis</i>	13
4.8.- Temperatura y salinidad promedio mensual en Boca de Camichín y Pozo Chino	13
4.9.- Elaboración de canal endémico para Boca de Camichín y Pozo Chino	14

Capítulo 5. Resultados	15
5.1.- Prevalencia e intensidad de <i>P. marinus</i> por tallas.....	15
5.2.1- Fluctuaciones de prevalencia de <i>P. marinus</i> , temperatura y salinidad en Boca de Camichín y Pozo Chino	16
5.3.- Prevalencia anual de <i>P. marinus</i> en Boca de Camichín y Pozo Chino	20
5.4.1.- Fluctuaciones de intensidad mensual de <i>P. marinus</i> en Boca de Camichín y Pozo Chino.	22
5.5.- Intensidad anual de <i>P. marinus</i> en Boca de Camichín y Pozo Chino	28
5.6.- Prevalencia e intensidad de <i>P. marinus</i> por sexos.....	30
5.7.- Canal endémico en Boca de Camichín y Pozo Chino	31
Capítulo 6.-Discusión	34
Capítulo 7.- Conclusiones	39
Capítulo 8.- Recomendaciones	40
Lista de referencias	41

Lista de figuras

Figura		Página
1	Ciclo de vida de <i>P. marinus</i> dentro del hospedero y en fase libre.....	3
2	Zonas de muestreo de <i>C. corteziensis</i> . (A) Boca de Camichín, (B) Pozo Chino, (C) y (D) acercamientos de las zonas de muestreo de cada una de las localidades, las flechas blancas indican las unidades de cultivo.	10
3	Prevalencia de <i>P. marinus</i> de acuerdo a la talla de los organismos. Las letras diferentes muestran diferencias significativas. La línea punteada indica la tendencia de aumento de la prevalencia con la talla.....	15
4	Intensidad de <i>P. marinus</i> de acuerdo a la talla de los organismos. La línea punteada indica la relación de la prevalencia con la talla.....	16
5	Fluctuaciones de prevalencia de <i>P. marinus</i> , temperatura y salinidad en Boca de Camichín. La línea punteada indica la tendencia de aumento de las temperaturas mínimas registradas durante la época de invierno.....	17
6	Fluctuaciones de prevalencia de <i>P. marinus</i> , temperatura y salinidad en Pozo Chino. Los asteriscos rojos (*) señalan los meses en los que no se realizó muestreo y las "X" los meses donde las muestras tenían una talla < 3 cm. La línea punteada indica la tendencia de aumento de las temperaturas mínimas registradas durante la época de invierno.....	18
7	Fluctuaciones de prevalencia de <i>P. marinus</i> , temperatura y salinidad en Boca de Camichín y Pozo Chino. Las flechas indican los meses en que se presentaron mortalidades debido a lluvias y aportes de agua dulce por los ríos. La línea punteada indica la tendencia de aumento de las temperaturas mínimas registradas durante la época de invierno.....	19
8	Prevalencia promedio de <i>P. marinus</i> por año en Boca de Camichín. Letras diferentes muestran diferencias significativas.....	17
9	Prevalencia promedio de <i>P. marinus</i> por año en Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.	21

10	Prevalencia promedio de <i>P. marinus</i> por año en Boca de Camichín y Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.	21
11	Fluctuaciones de intensidad mensual de <i>P. marinus</i> durante el periodo de estudio en Boca de Camichín.....	22-23
12	Fluctuaciones de intensidad mensual de <i>P. marinus</i> durante el periodo de estudio en Pozo Chino. Los asteriscos rojos (*) señalan los meses en los que no se realizó muestreo y las "X" muestran los meses en los que las muestras tenían una talla < 3 cm.....	21-22
13	Fluctuaciones de intensidad mensual de <i>P. marinus</i> durante el periodo de estudio en Boca de Camichín y Pozo Chino.....	26-27
14	Intensidad anual de <i>P. marinus</i> en Boca de Camichín. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.....	28
15	Intensidad anual de <i>P. marinus</i> en Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.....	29
16	Intensidad anual de <i>P. marinus</i> en Boca de Camichín y Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.....	30
17	Prevalencia de <i>P. marinus</i> según su sexo. Las letras diferentes muestran diferencias significativas	30
18	Intensidad de <i>P. marinus</i> según su sexo, grado 1 (G1), grado 2 (G2) y grado 3 (G3). Las letras diferentes muestran diferencias significativas.....	31
19	Canal endémico para Boca de Camichín.....	32
20	Canal endémico para Pozo Chino.....	32
18	Canal endémico para Boca Camichín y Pozo Chino.....	33

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Lista cronológica a partir de la fecha de realización de los estudios sobre parásitos y simbioses en <i>C. corteziensis</i> (Modificada de Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013).....	2

Capítulo 1. Introducción

1.1.- Importancia y generalidades del ostión de placer *Crassostrea corteziensis*

Crassostrea corteziensis, conocido comúnmente como ostión de placer, es un molusco bivalvo perteneciente a la familia Ostreidae del género *Crassostrea*; como todos los integrantes de este género, presenta un estadio larvario planctónico y posteriormente vive como un organismo epibentónico sésil que se alimenta por filtración (Galtsoff, 1964). Sus valvas presentan un margen interno liso y no posee dentículos internos laterales a la charnela. La distribución de esta especie sigue estrictamente las zonas de manglar y no se encuentra en las costas expuestas al mar abierto; esta distribución parece depender esencialmente de condiciones estuarinas más o menos estables y aguas tranquilas (Stuardo y Martínez, 1975). Se ha encontrado desde las costas de la cabecera del Golfo de California hasta Panamá, siendo muy abundante, entre Sonora y Nayarit (Mazón-Suástegui, 1996). El ostión de placer se ha cultivado de manera artesanal y depende principalmente de la captación de semilla del medio natural (Padilla-Lardizábal y Aguilar-Medina, 2012). Este tipo de cultivos se han realizado principalmente en los estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit, siendo el Estado de Nayarit el principal productor con una producción de 1,100 ton anuales. Adicionalmente, la pesquería de ésta especie contribuye con unas 1,800 ton anuales (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013). El ostión de placer tiene una posición importante en el mercado regional, por su alto valor nutricional, excelente sabor y por sus relativos bajos costos de producción, además de tener un gran potencial para la acuicultura, debido a su rápido crecimiento y aceptación (Cáceres-Puig *et al.*, 2007).

1.2 Principales enfermedades de *C. corteziensis*

Se han descrito diversas enfermedades infecciosas que afectan a *C. corteziensis* causadas por virus, bacterias, protozoos y metazoos (Tabla 1). Entre ellas, la perkinsosis ha tomado especial interés, ya que es una enfermedad considerada de declaración obligatoria por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), por su impacto negativo en la producción del ostión americano *Crassostrea virginica* en la costa este de EUA y su

potencial efecto negativo en otros ostreidos (Andrews 1980). Hasta el momento no se ha establecido con claridad qué papel desempeña este parásito en el desarrollo y sobrevivencia de poblaciones naturales y de cultivo de ostión de placer en el noroeste de México (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans 2013).

Tabla 1. Lista cronológica a partir de la fecha de realización de los estudios sobre parásitos y simbiontes en *C. corteziensis* (Modificada de Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013)

Parásito o simbionte	Distribución	Efecto	Año	Referencia
<i>P. marinus</i>	Sonora	Desarrollo de la infección	2008	Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2008
Hipertrofia gametocítica Viral, Rickettsias, <i>Nematopsis</i> sp. <i>Ancistrocoma</i> sp. <i>Sphenophrya</i> sp. <i>Urastoma</i> sp. Crustáceos encapsulados	Nayarit	Daño ligero a moderado en los tejidos	2006-2007	Cáceres-Martínez <i>et al.</i> , 2010
<i>P. marinus</i>	Nayarit	Desarrollo de la infección	2008	Navarro-Barrera, 2011
<i>P. marinus</i>	Sinaloa	Desarrollo de la infección	2010	Pineda-García, 2011
<i>P. marinus</i>	Sinaloa	Desarrollo de la infección	2010	Cáceres-Martínez <i>et al.</i> , 2012)

1.3 *Perkinsus marinus*

El agente causal de la enfermedad de “Dermo” o perkinsosis es el protozoario *Perkinsus marinus* el cual fue denominado inicialmente como *Dermocystidium marinum* (Mackin *et al.* 1950), por considerar que se trataba de un hongo. *P. marinus* es un protista del phylum Apicomplexa, que presenta cierta asociación taxonómica con los dinoflagelados (Vivier, 1982). De acuerdo con Perkins (1996), el ciclo de vida de *P. marinus* (Fig. 1) dentro del

hospedero inicia con la presencia de un trofozoito inmaduro de forma esférica que posteriormente se convierte en un trofozoito maduro a partir del desarrollo de una vacuola excéntrica (vacuoplasto) que da un aspecto de anillo. Dentro del vacuoplasto se inicia la fase de multiplicación por divisiones binarias sucesivas (ciclo de cariocinesis seguido de citocinesis), mediante las cuales se obtienen de 8 a 16 células hijas. Cada célula hija es llamada trofozoito inmaduro y permanece junto a otras, rodeadas por una pared dentro de una estructura llamada tomonte, la cual al romperse libera a los trofozoitos, iniciando un nuevo ciclo de infección. *P. marinus* también cuenta con una fase de vida libre mediante un estado de resistencia llamado hipnospora, la cual se forma a partir del aumento de tamaño del trofozoito y la pérdida del vacuoplasto. Esto ocurre cuando *P. marinus* se libera al ambiente ya sea por vía de heces fecales o al morir un ostión infectado. Fuera del hospedero, la hipnospora forma zoosporas biflageladas, las cuales son liberadas al ambiente mediante el tubo de descarga, infectando a nuevos hospederos (Perkins, 1996).

En la actualidad se reconocen 7 especies del género *Perkinsus* las cuales se distribuyen en casi todos los continentes, ellas son *P. beihaiensis*, *P. chesapeaki*, *P. honshuensis*, *P. mediterraneus*, *P. qugwadii*, *P. olseni* y *P. marinus* siendo las dos últimas las de mayor impacto en la producción de moluscos (Villalba *et al.*, 2011).

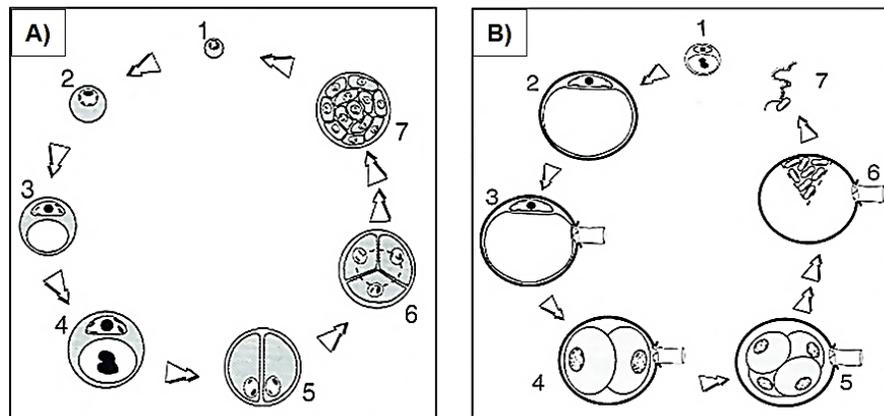


Figura 1.- A): Ciclo de vida de *P. marinus* dentro del hospedero: 1-3) Trofozoito inmaduro; 4) Trofozoito maduro; 5-6) Trofozoito en división; 7) tomonte. B): Fase de vida libre de *P. marinus*: 1-2) Aumento de tamaño del trofozoito y pérdida del vacuoplasto; 3) desarrollo de poro con tubo de descarga; 4-5) formación de zoosporas; 6-7) liberación de zoosporas (Modificado de Perkins, 1996).

1.4 Epizootiología de *P. marinus*

La epizootiología es el estudio de las enfermedades infecciosas a nivel poblacional y, entre los parámetros epizootiológicos más importantes, están el ciclo de infección, la posible estacionalidad de la prevalencia e intensidad de la infección, la fluctuación interanual de la prevalencia e intensidad de la infección, la asociación de la infección con la edad y sexo del hospedero, así como la asociación de la infección con las condiciones ambientales particulares tales como la temperatura y la salinidad (Ragone-Calvo *et al.*, 2000; Ragone-Calvo y Burreson, 2003; Audemard *et al.*, 2006). En el caso de *P. marinus* de la costa este de EUA y el Golfo de México estadounidense, estos aspectos fueron relativamente bien estudiados desde 1960 hasta la década de 1990 (Andrews y Hewatt, 1957; Mackin, 1962; Quick y Mackin, 1971; Andrews, 1980; Craig *et al.*, 1989; Soniat y Gauthier, 1989; Crosby y Roberts, 1990; Burreson y Ragone-Calvo, 1996). Se ha demostrado que la infección se puede llevar a cabo mediante la ruta oral y por filtración de heces y pseudoheces que son liberadas al medio por los organismos infectados o por la muerte de ostiones infectados al liberarse estadios infectivos al ambiente (Bushek *et al.*, 2002; Ragone-Calvo *et al.*, 2003). En este sentido, la proximidad de los organismos infectados con los no infectados juega un papel importante en la diseminación de la enfermedad (Andrews y Ray, 1988).

El primer registro de *P. marinus* en aguas mexicanas del Golfo de México fue documentado por Mackin (1951), quien menciona que de siete ostiones recolectados cerca de Tampico en enero de 1950, cinco estaban infectados. A partir de 1992 los registros de este parásito en lagunas costeras mexicanas del Golfo de México han sido frecuentes y hoy se sabe que su distribución va desde Tamaulipas hasta Campeche (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013). En 2006, durante un monitoreo sanitario en dos lagunas costeras del Estado de Nayarit, se obtuvo el primer registro de *P. marinus* para el Pacífico mexicano detectado en una nueva especie de ostión, *C. corteziensis* (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008) y posteriormente en el ostión de mangle *Saccostrea palmula* (Cáceres-Martínez *et al.*, 2012).

1.5 Influencia de la temperatura y la salinidad en la perkinsosis

La temperatura y la salinidad son los principales factores ambientales considerados en los estudios epizootiológicos de *P. marinus* en lagunas costeras de la costa Este de EUA (Soniati, 1985; Andrews, 1988; Burreson y Ragone-Calvo, 1996;). Burreson y Ragone-Calvo (1996) mencionan que la dinámica de la perkinsosis está influenciada por estos dos factores, existiendo diferencias en los rangos óptimos de estas variables entre las especies del género (Villalba *et al.*, 2011). Tanto la prevalencia como la intensidad de las infecciones comienzan a aumentar en junio, cuando la temperatura sobrepasa los 20 °C (Burreson y Ragone-Calvo, 1996). Respecto a la salinidad, Paynter y Burreson (1991) encontraron que los juveniles de ostión cultivados en zonas de baja salinidad (8-10 ups) no adquieren la infección, mientras que los expuestos a una salinidad moderada (12-15 ups) y alta (16 a 20 ups) sí la adquieren.

1.6 La edad y la resistencia de *C. corteziensis* a la perkinsosis

Mackin (1951) encontró que en *C. virginica* de menos de 1 año de edad procedentes de Luisiana EUA, no se observaron infecciones severas, lo cual puede estar relacionado con el tiempo de exposición de las ostras al parásito. Burreson y Ragone-Calvo (1996) mencionan que ostiones sanos, de aproximadamente 30 mm, suelen adquirir la infección por *P. marinus* durante mediados y finales del verano del primer año de exposición al parásito sin presentar mortalidades. Sin embargo, se presentan altas mortalidades hasta del 90%, durante el segundo verano si las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de *P. marinus*.

1.7.- Predicciones epizootiológicas para *P. marinus*

Burreson y Ragone-Calvo (1996) realizaron un esquema predictivo del comportamiento de la perkinsosis en la bahía de Chesapeake en la costa este de EU, a partir del análisis de datos de campo recopilados durante 10 años, ese esquema ha sido de gran utilidad para los productores de la zona ya que de una forma gráfica y sencilla muestra las diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad. Por su parte Powell, Klinck y Hoffman (1996) realizaron estudios de modelos más complejos de comportamiento de la enfermedad en el Golfo de México, pero sus resultados son de difícil interpretación y

aplicación a otras localidades. En este sentido, en medicina humana y veterinaria, se han establecido predicciones del desarrollo de enfermedades infecciosas a partir de análisis simples como son el uso de cuartiles, esta metodología considera estudios previos de prevalencia de una enfermedad dada durante al menos un periodo de 5 años (Collins, 1932; Boffi, y Álvarez-Herrera, 1970; Leal *et al.*, 2006), y se conocen como canales o corredores endémicos que ilustran muy bien el desarrollo de la enfermedad en cuestión y por tanto la aplicación de medidas sanitarias, en el presente estudio se aplicara esta metodología por primera vez para la perkinsosis en ostiones.

Capítulo 2. Justificación

2.1.- Justificación

La Perkinsosis es una de las enfermedades de moluscos bivalvos más importantes por el impacto negativo que ha tenido en poblaciones del ostión americano *Crassostrea virginica* en la costa este de Estados Unidos. Debido a este impacto, esta enfermedad es listada por la OIE como una enfermedad de declaración obligatoria. Su epizootiología en la costa este de EUA ha sido bien estudiada y por lo tanto se han establecido medidas de mitigación acordes con la dinámica de la enfermedad. Hacia inicios de 2006, la perkinsosis se descubrió en un nuevo hospedero, el ostión de placer *Crassostrea corteziensis* de la costa del Pacífico de México, específicamente en los estados de Nayarit, Sonora y Sinaloa (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013). Desde ese entonces hasta la fecha, se ha venido realizando un seguimiento de la dinámica de la infección (prevalencia e intensidad) a través de análisis histopatológicos en dos localidades de cultivo de *C. corteziensis* en el Estado de Nayarit. El análisis de la base de datos de este seguimiento así como el registro de las temperaturas y salinidades en la zona de estudio, que comprende el período 2007-2014, permitirá determinar el comportamiento de la enfermedad a lo largo de 8 años, brindando una oportunidad única para dimensionar el posible impacto negativo de esta enfermedad en la zona y, en su caso sugerir medidas de bioseguridad para su control. El contar con los elementos básicos sobre el comportamiento de la enfermedad en la zona estudiada, permitirá un mejor desarrollo del cultivo de *C. corteziensis* en el Estado de Nayarit.

Capítulo 3. Hipótesis

3.1.- Hipótesis

- La prevalencia e intensidad de la infección por *Perkinsus marinus* en el ostión *Crassostrea corteziensis* cultivado en Boca de Camichín y Pozo Chino sigue un patrón estacional similar.
- Existe una relación entre la prevalencia e intensidad de la infección con respecto a la temperatura y la salinidad.
- Existe una relación de la talla de *C. corteziensis* con la prevalencia e intensidad de la infección.
- No existen diferencias en la prevalencia e intensidad de la infección entre machos y hembras.

3.2.- Objetivo general

- Determinar algunos parámetros epizootiológicos de *P. marinus* en el ostión de placer *C. corteziensis* en Boca de Camichín y Pozo Chino, Nayarit durante el período 2007-2014.

3.3.- Objetivos particulares

- Analizar los datos de prevalencia e intensidad de *P. marinus* en *C. corteziensis* previamente obtenidos por la técnica histológica
- Analizar los datos de temperatura y salinidad reportados en las localidades estudiadas para determinar su posible asociación con la perkinsosis en *C. corteziensis*.
- Comparar la prevalencia e intensidad de *P. marinus* de acuerdo a la talla de *C. corteziensis*.
- Comparar la prevalencia e intensidad de *P. marinus* de acuerdo al sexo de *C. corteziensis*.
- Elaborar el corredor o canal endémico de la enfermedad.

Capítulo 4. Materiales y métodos

4.1.- Trabajo previo de muestreo y recopilación de datos

El estudio se realizó mensualmente de enero de 2007 a diciembre de 2014 en las dos principales localidades de cultivo del Estado de Nayarit, Boca de Camichín (21° 48' 44"N, 105° 31' 24"W) y Pozo Chino (21° 42' 12"N, 105° 28' 3"W) ya que en ellas se concentra la mayor producción ostrícola (Fig. 2). La temperatura superficial del agua y la salinidad se registraron, puntualmente, utilizando un termómetro y un salinómetro de campo. En cada una de las localidades se obtuvieron de 20 a 50 ostiones de acuerdo a la disponibilidad de muestras y procurando que todas fueran de talla comercial. Los ostiones se enviaron vivos en hieleras al laboratorio del Instituto de Sanidad Acuícola. Los ostiones se midieron del umbo al borde posterior de la concha con una cinta métrica flexible y los datos se anotaron en centímetros. Se analizaron 7.700 ostiones; posteriormente, los ostiones fueron procesados histológicamente como se describirá a continuación.

4.2.- Análisis histológico

Cada ostión fue abierto con la ayuda de un cuchillo romo y guantes de protección para remover el cuerpo blando y hacer un corte transversal de aproximadamente 5 mm, el cual incluyó el manto, glándula digestiva, riñones, gónada y branquias. Cada corte se colocó en un casete histológico y se fijó en solución Davidson por 24 horas. Posteriormente se realizó la deshidratación e inclusión en parafina.

Los cortes histológicos se realizaron con un microtomo a 5 µm de grosor, éstos se colocaron en portaobjetos y se tiñeron con hematoxilina-eosina/floxina (Shaw y Battle, 1957), para finalmente revisar las laminillas en un microscopio compuesto con los objetivos 40x y 100x. Este trabajo fue previamente realizado por personal de Instituto de Sanidad Acuícola y el CICESE.

4.3.- Elaboración de la base de datos

El Instituto de Sanidad Acuícola, A. C. (ISA) proporcionó las hojas de campo con los registros originales de temperatura, salinidad y talla de los organismos muestreados; así como las hojas de registro histológico de laboratorio con los datos de sexo, prevalencia e intensidad de infección por *P. marinus*. A partir de estas hojas se elaboró una base de datos con el programa Excel de Microsoft

4.4.- Determinación de la prevalencia e intensidad de *P. marinus*

La prevalencia de *P. marinus*, considerando el número de organismos infectados entre el total de organismos analizados, expresado en porcentaje (Cáceres-Martínez *et al.*, 2010), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$PE\% = (OI/OA) * 100.$$

Dónde:

PE%= Porcentaje de organismos infectados en la población estudiada.

OI= número de organismos infectados

OA= número de organismos analizados

La intensidad de *P. marinus* se refiere las alteraciones en los tejidos asociadas a la presencia del parásito; la cual se calculó previamente considerando la escala relativa propuesta por Cáceres *et al.* (2008). En esta escala se tienen tres grados de intensidad: ligera (G1), cuando se encuentran estadios de desarrollo del parásito solo en el epitelio de algunas zonas del intestino y no se observa infiltración de hemocitos en los tejido ni destrucción de los mismos; moderada (G2), cuando se encuentran fases de desarrollo del parásito en el epitelio de algunas áreas del intestino y en el tejido conectivo con infiltración focal de hemocitos y la grave (G3), cuando se produce la infiltración de hemocitos generalizada y los diferentes estadios de desarrollo del parásito invaden el epitelio del intestino, el tejido conectivo que rodea la glándula digestiva, gónadas, manto y branquias.

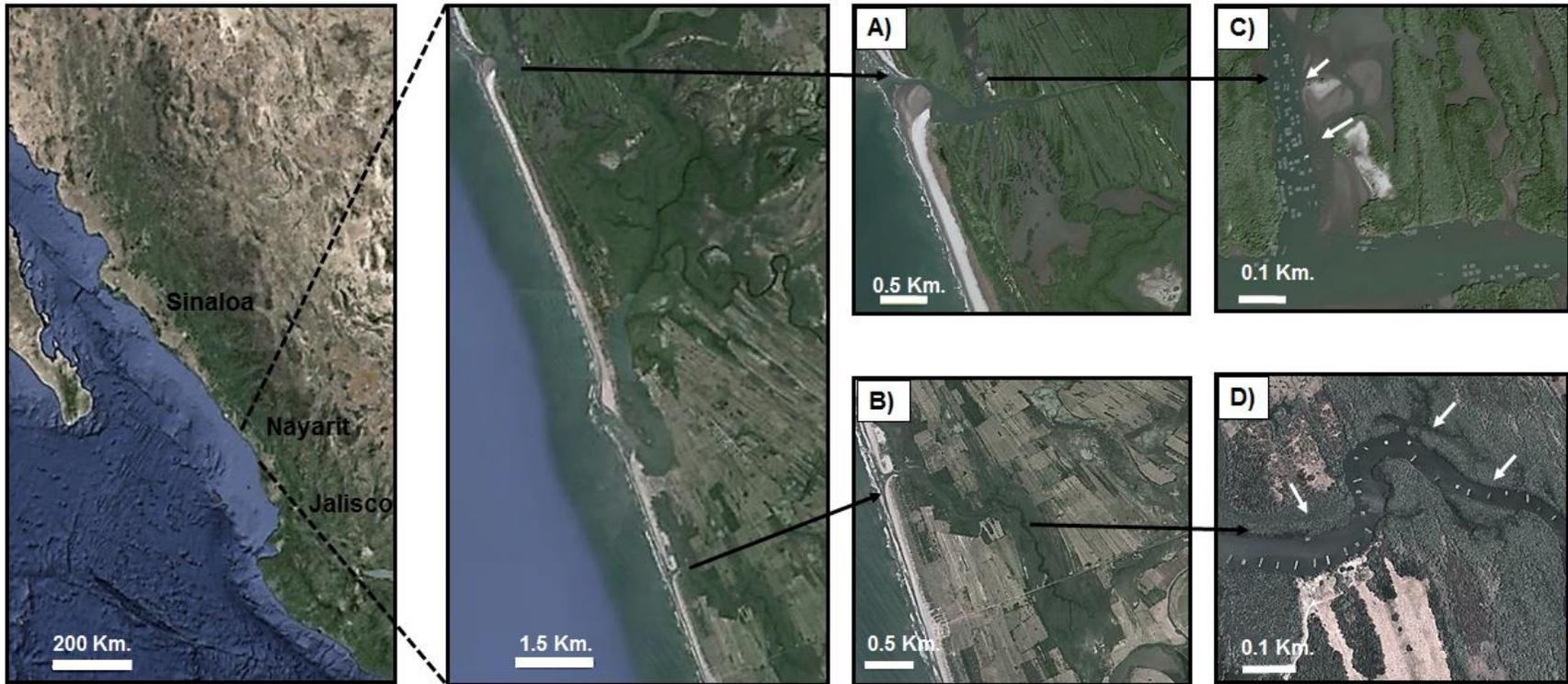


Figura 2. - Zonas de muestreo de *C. corteziensis*. (A) Boca de Camichín, (B) Pozo Chino, (C) y (D) acercamientos de las zonas de muestreo de cada una de las localidades. Las flechas blancas indican las unidades de cultivo (Imágenes tomadas de Google Earth, 2015).

4.5.- Asociación de la talla con la infección por *P. marinus*

A partir de los registros de talla de los ostiones, se realizó una distribución de tallas por intervalos de 1 cm (2-9.9 cm). Estos datos se asociaron gráficamente con la prevalencia e intensidad de *P. marinus*. Posteriormente se corroboró la asociación de la talla de los organismos analizados mediante una regresión lineal simple con respecto a la prevalencia e intensidad de infección. Se utilizó la prueba estadística Kruskal Wallis para determinar la existencia de diferencias significativas entre la prevalencia de infección y las tallas de los organismos, consecuentemente se realizó la prueba posteriori de Tukey para detectar cuales tallas presentaron diferencias entre sí.

4.6.- Prevalencia e intensidad de *P. marinus* por mes en Boca de Camichín y Pozo Chino

Se determinó la prevalencia e intensidad mensualmente de acuerdo a la metodología descrita anteriormente durante el periodo de estudio en Boca de Camichín, Pozo Chino y posteriormente se promediaron los valores de las dos localidades en conjunto para obtener la prevalencia e intensidad para la zona de cultivo. Los resultados se compararon gráficamente. Adicionalmente, se hizo una comparación estadística entre las prevalencias de invierno-verano (Julio, Agosto, septiembre-Enero, Febrero, Marzo) mediante la prueba estadística U Mann-Whitney, posteriormente se llevó a cabo la prueba Kruskal Wallis para determinar la existencia de diferencias entre las prevalencias de verano y de invierno entre cada uno de los años de muestreo, consecuentemente se realizó la prueba posteriori de Tukey para detectar en que años se encontraban las diferencias para el caso de la época de verano.

4.6.2- Prevalencia e intensidad de *P. marinus* estandarizada por año en Boca de Camichín y Pozo Chino

Debido a que el tamaño de muestra fue variable durante el estudio, éste tamaño de muestra se estandarizó considerando el menor tamaño de muestra

para cada localidad, de tal forma que en aquellos casos en que el tamaño de muestra fue mayor, se tomó al azar el número estándar (menor) para reducir el sesgo derivado del tamaño de muestra y, de éste modo, hacer la comparación correspondiente. Se determinó la asociación de la prevalencia e intensidad anual estandarizada por año en Boca de Camichín, Pozo Chino y posteriormente se promediaron los valores de las dos localidades en conjunto para obtener la prevalencia e intensidad anual para la zona de cultivo de acuerdo a la metodología descrita anteriormente. Finalmente se corroboró la existencia de diferencias significativas entre los años mediante la prueba Kruskal Wallis y consiguientemente se realizó la prueba posteriori de Tukey para detectar en que años se mostraban las diferencias.

4.7.- Prevalencia e intensidad de *P. marinus* por sexos en *C. corteziensis*

De la base de datos obtenida de ambas localidades se determinó el porcentaje de hembras, machos y organismos indiferenciados, posteriormente se determinó la prevalencia e intensidad entre sexos las cuales fueron comparadas gráficamente. Finalmente se corroboró la existencia de diferencias entre sexos mediante la prueba Kruskal Wallis y consiguientemente se realizó la prueba posteriori de Tukey para detectar en donde se mostraban las diferencias significativas.

4.8.- Temperatura y salinidad promedio mensual en Boca de Camichín y Pozo Chino

Los promedios mensuales de temperatura y salinidad puntuales obtenidos de los registros de campo durante el periodo de estudio en Boca de Camichín y Pozo Chino y se expresaron gráficamente. Posteriormente se seleccionaron las temperaturas promedio de la época de verano y se verificó su grado de asociación con el porcentaje de prevalencia mediante una regresión lineal simple. Finalmente se realizó la prueba Kruskal Wallis para detectar la existencia de diferencias significativas entre la prevalencia durante la temporada de verano e invierno.

Consecuentemente se realizó la prueba posteriori de Tukey en el caso de la época de verano para detectar en que años se encontraban las diferencias.

4.9.- Elaboración de canal endémico para Boca de Camichín y Pozo Chino

Para predecir el número de casos esperados en un tiempo determinado con base en la incidencia histórica de *P. marinus*, se llevó a cabo la realización del canal endémico, el cual es una importante herramienta que nos permiten realizar tareas de vigilancia epidemiológica en una población, este se llevó a cabo de acuerdo a la metodología de cuartiles (Bortman, 1999), la cual consistió en la elaboración de una tabla en donde los porcentajes de prevalencia correspondientes al mismo mes, se ordenan de mayor a menor frecuencia, independientemente del año de muestreo, obteniendo para cada uno de los meses el porcentaje de prevalencia en orden decreciente. Este ordenamiento permite obtener los valores mínimos, medios y máximos para cada mes en particular durante el periodo de estudio y así tener una base predictiva. Los valores de los cuartiles se obtuvieron mediante la siguiente fórmula:

$$Qx = \left[\frac{N + 1}{4} \right] * Z$$

En donde:

Qx = Cuartil a calcular.

N = Número de años considerados.

Z = Cuartil a calcular (1, 2 o 3)

4 = Constante que hace referencia al total de la serie, que se divide en cuatro cuartiles.

Capítulo 5. Resultados

5.1.- Prevalencia e intensidad de *P. marinus* por tallas

El promedio (\pm desviación estándar) de tallas en Boca de Camichín fue de 6.01 \pm 1.76 cm y 5.55 \pm 1.93 cm en Pozo Chino encontrándose diferencias significativas ($U = 67.5$, $P = 0.039$) entre las tallas de ambas localidades.

Las mayores prevalencias (\sim 13%) se presentaron en los organismos más grandes, no encontrándose diferencias ($P > 0.05$) entre los organismos de 5 cm con respecto a los organismos entre los intervalos de 6-6.9 ($q = 0.542$), 7-7.9 ($q = 1.472$), 8-8.9 ($q = 0.542$) y 9-9.9 ($q = 0.387$) cm de longitud de la concha. Las menores prevalencias se encontraron en las tallas menores, mostrando diferencias ($P < 0.05$) entre los organismos de 2-2.9 cm con los de 3-3.9 ($q = 0.697$) y con los de 4-4.9 cm ($q = 1.704$). Se encontró una asociación ($r^2 = 0.7962$, $P = 0.0029$) entre los porcentajes de prevalencia y la talla de los organismos (Fig. 3).

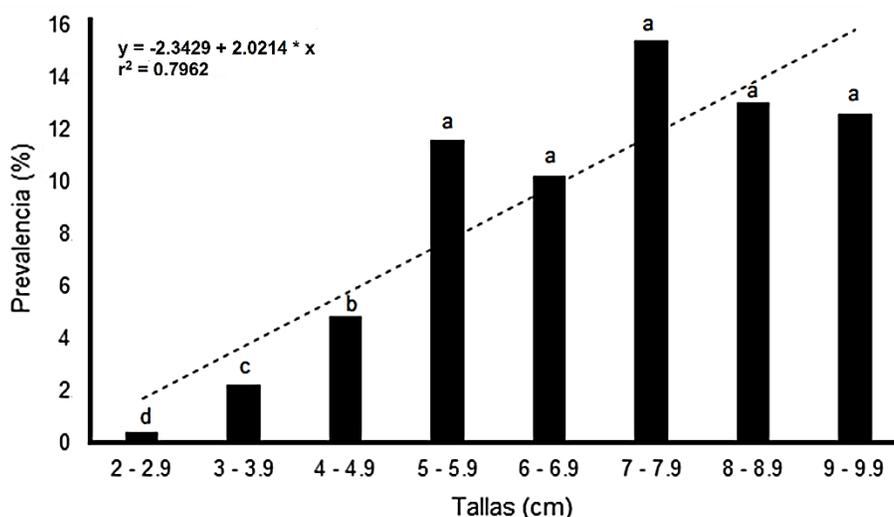


Figura 3.- Prevalencia de *P. marinus* de acuerdo a la talla de los organismos. Las letras diferentes muestran diferencias significativas. La línea punteada indica la tendencia de aumento de la prevalencia con la talla.

En las intensidades de grado 1, 2 y 3 se observaron valores máximos del 11.5, 3.3 y 0.8% respectivamente (Fig. 4). Se encontró una asociación en las infecciones ligeras ($r^2 = 0.7230$, $P = 0.0075$) y moderadas ($r^2 = 0.8784$, $P = 0.0006$) respecto a la talla de los organismos, en contraste, no se detectó una relación de las infecciones severas ($r^2 = 0.307$, $P = 0.1542$) con la talla.

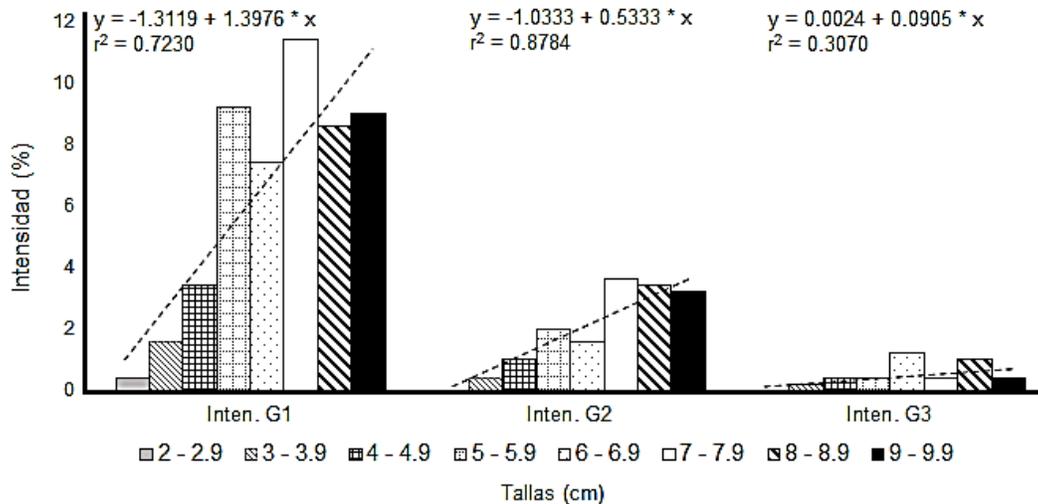


Figura 4.- Intensidad de *P. marinus* de acuerdo a la talla de los organismos. La línea punteada indica la relación de la prevalencia con la talla.

5.2.1- Fluctuaciones de prevalencia de *P. marinus*, temperatura y salinidad en Boca de Camichín y Pozo Chino

En la figura 5 se observa la fluctuación mensual de la prevalencia, temperatura y salinidad en Boca de Camichín a lo largo de ocho años de muestreo, encontrando que los niveles menores de salinidad al igual que los registros mayores de prevalencia y temperatura ocurrieron durante el verano. Se encontraron diferencias significativas ($U = 78.5$, $P < 0.001$) entre las prevalencias de verano con las de invierno. No se encontraron diferencias interanuales entre las prevalencias de invierno durante el periodo de estudio, a excepción del año del 2010 en que fue mayor a los restantes ($q = 4.49$, $P < 0.05$). Una comparación similar con las prevalencias de verano mostró los menores niveles de prevalencia en los años de 2007 ($q = 2.943$), 2011 ($q = 2.891$) y 2014 ($q = 1.75$) las cuales no presentaron diferencias entre sí ($P > 0.05$), el resto de los años de muestreo presentaron las

prevalencias mayores no mostrando diferencias entre los mismos ($P < 0.05$). Se encontró una asociación ($r^2 = 0.6627$, $P = 0.0139$) entre las temperaturas mínimas de invierno de $\sim 3^\circ\text{C}$ las cuales presentaron una tendencia al aumento durante el periodo de estudio.

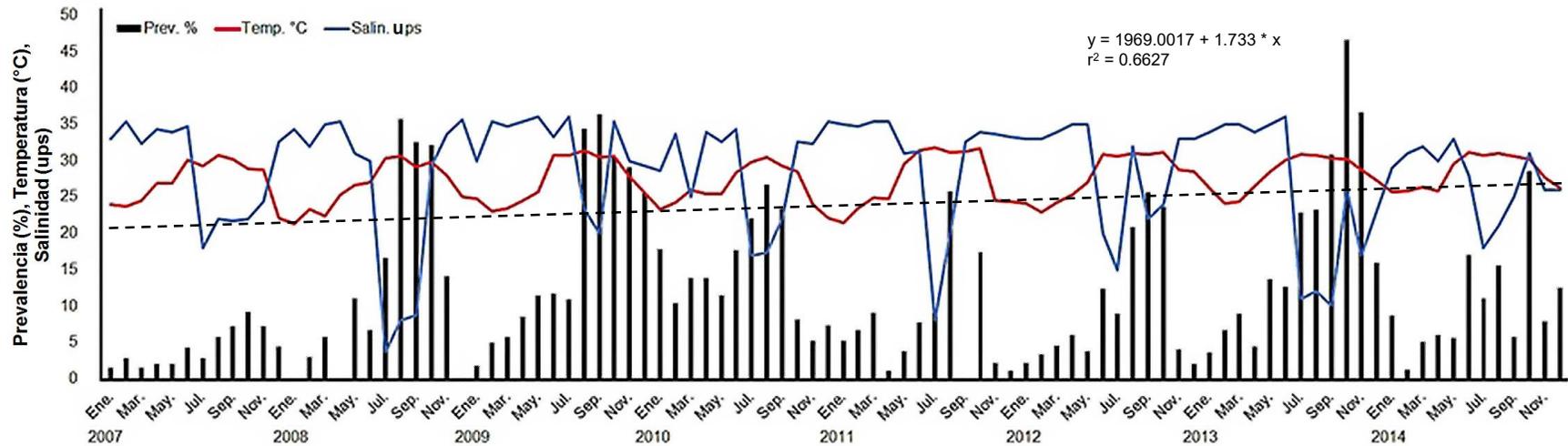


Figura 5.- Fluctuaciones de prevalencia de *P. marinus*, temperatura y salinidad en Boca de Camichín. La línea punteada indica la tendencia de aumento de las temperaturas mínimas registradas durante la época de invierno.

En la figura 6 se observa la fluctuación de la prevalencia mensual en Pozo Chino a lo largo de ocho años de muestreo, así como los datos promedio de temperatura y salinidad, encontrando que los niveles menores de salinidad, al igual que los registros mayores de prevalencia y temperatura, se presentaron en el verano. Se encontraron diferencias significativas ($U = 445$, $P = 0.001$) entre las prevalencias de verano e invierno, mientras que no se encontraron diferencias entre los meses de invierno ($H = 10.793$, $P = 0.148$) en el periodo de estudio. En cuanto a la comparación de las prevalencias de verano, se observaron diferencias ($P = 0.002$) pero solo en el año 2013 ($q = 56.34$) que a su vez presentó los valores mayores de

prevalencia. Se encontró una asociación ($r^2 = 0.6409$, $P = 0.0170$) entre las temperaturas mínimas reportadas (época de invierno) con una tendencia al aumento ($\sim 3^\circ\text{C}$) con los años de muestreo.

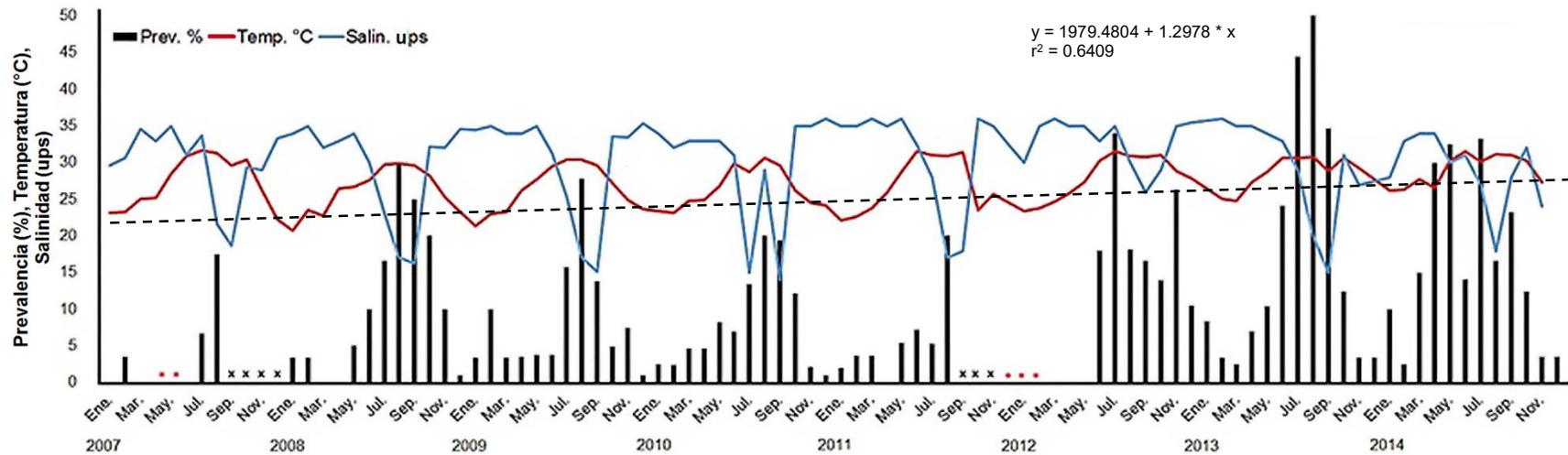


Figura 6.- Fluctuaciones de prevalencia de *P. marinus*, temperatura y salinidad en Pozo Chino. Los asteriscos rojos (*) señalan los meses en los que no se realizó muestreo y las "X" los meses donde las muestras tenían una talla < 3 cm. La línea punteada indica la tendencia de aumento de las temperaturas mínimas registradas durante la época de invierno.

Considerando el promedio de prevalencia mensual de ambas localidades (Boca de Camichín y Pozo Chino) así como los promedios mensuales de temperatura y salinidad (Fig. 7). Los niveles menores de salinidad al igual que los registros mayores de prevalencia y temperatura fueron en verano. Se encontraron diferencias significativas ($U = 513$, $P < 0.001$) entre las prevalencias de verano e invierno. Durante la temporada de invierno se encontraron diferencias significativas interanuales ($P < 0.05$), donde el año 2007 presentó la menor prevalencia con respecto a los años 2010 ($q = 4.706$), 2011

($q = 0.697$) 2013 ($q = 1.007$) y 2014 ($q = 1.704$). Asimismo 2010 mostró diferencias ($P < 0.05$) con los años del 2008 ($q = 2.091$) y 2012 ($q = 0.542$). También se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en la comparación de las prevalencias de verano en el año del 2007 con los años del 2008 ($q = 5.809$), 2012 ($q = 5.112$) y 2013 ($q = 4.87$). Se encontró una asociación ($r^2 = 0.6798$, $P = 0.0118$) entre las temperaturas mínimas reportadas (época de invierno) con los años de muestreo.

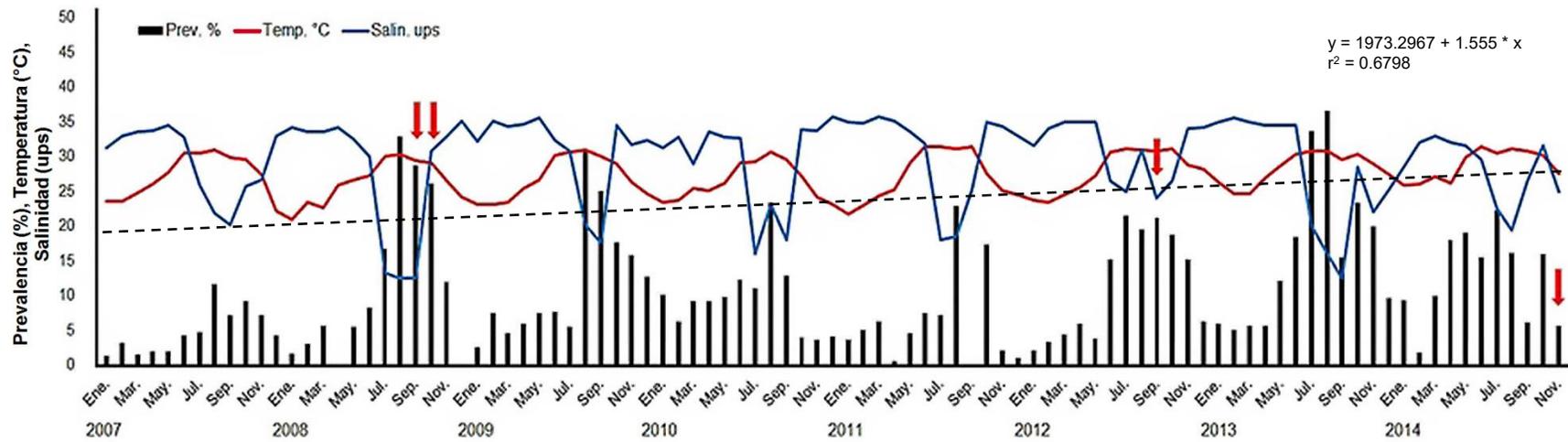


Figura 7.- Fluctuaciones de prevalencia de *P. marinus*, temperatura y salinidad en Boca de Camichín y Pozo Chino. Las flechas indican los meses en que se presentaron mortalidades debido a lluvias y aportes de agua dulce por los ríos. La línea punteada indica la tendencia de aumento de las temperaturas mínimas registradas durante la época de invierno.

5.3.- Prevalencia anual de *P. marinus* en Boca de Camichín y Pozo Chino

Considerando la prevalencia anual en Boca de Camichín, esta presentó los niveles menores (4.21%) en 2007 siendo significativamente ($q = 4.917$, $P = 0.003$) más baja al resto de los años de muestreo. Se encontraron prevalencias medias (~10%) en los años 2011 ($q = 3.59$), 2012 ($q = 2.74$) y 2014 ($q = 1.974$), los cuales no presentaron diferencias entre sí ($P > 0.05$). Las prevalencias mayores (16%) se presentaron durante los años 2008 ($q = 2.093$), 2009 ($q = 0.342$), 2010 ($q = 0.13$) y 2013 ($q = 3.59$), no mostrando diferencias entre los mismos ($P > 0.05$) (Fig. 8).

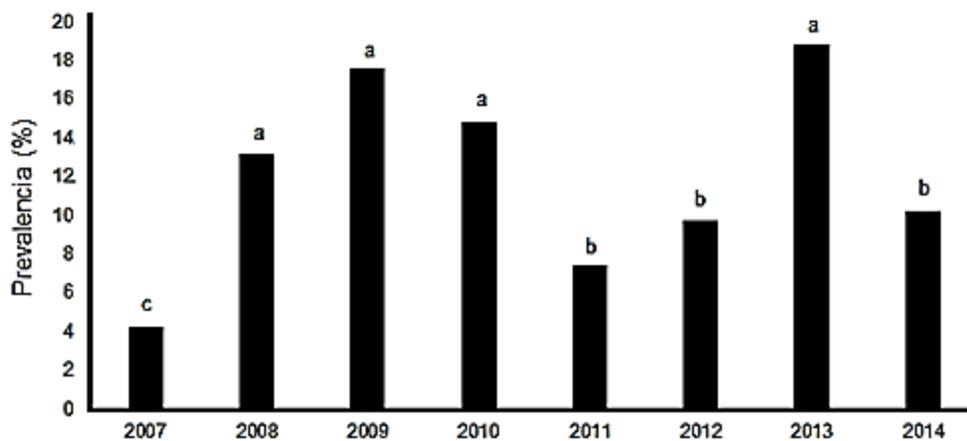


Figura 8.- Prevalencia anual promedio de *P. marinus* por año en Boca de Camichín. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

En el área de Pozo Chino, los años 2007 ($q = 1.53$), 2008 ($q = 0.30$), 2009 ($q = 0.76$), 2010 ($q = 2.03$) y 2011 ($q = 1.25$), no se presentaron diferencias ($P > 0.05$) en la prevalencia, con valores menores al 10%. Las mayores prevalencias se observaron en los años de 2012 ($q = 0.25$), 2013 ($q = 1.38$) y 2014 ($q = 3.4$), sin que se observaran diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los mismos con una prevalencia promedio del 14% (Fig. 9).

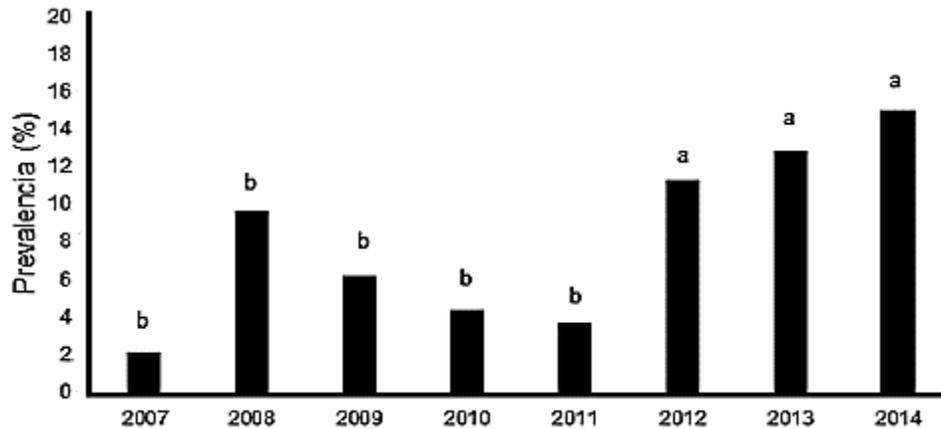


Figura 9.- Prevalencia promedio de *P. marinus* por año en Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

En cuanto a la comparación anual de las prevalencias de los ocho años de muestreo, combinando los datos de Boca de Camichín y Pozo Chino, se encontraron las prevalencias menores (~6%) en 2007 ($q = 4.53$) y 2011 ($q = 4.48$), los cuales mostraron diferencias ($P < 0.05$) con respecto a los demás años de muestreo. Las mayores prevalencias (~12%) se encontraron en 2008 ($q = 2.15$), 2009 ($q = 1.18$), 2010 ($q = 1.62$), 2012 ($q = 1.5$), 2013 ($q = 3.86$) y 2014 ($q = 3.93$), no encontrándose diferencias ($P > 0.05$) entre los mismos (Fig. 10).

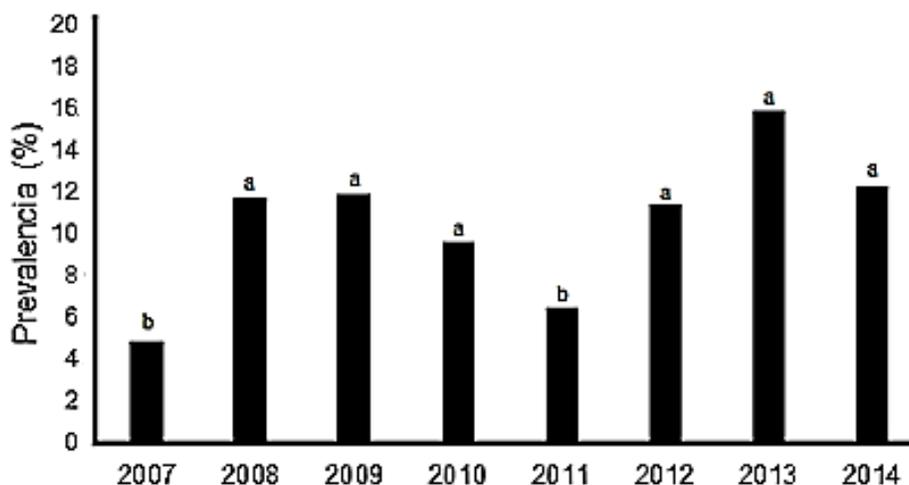


Figura 10.- Prevalencia promedio de *P. marinus* por año en Boca de Camichín y Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

5.4.1.- Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* en Boca de Camichín y Pozo Chino

En la figura 11 se observan las fluctuaciones de intensidad mensual en Boca de Camichín durante el periodo de estudio. Las mayores frecuencias fueron en los meses de agosto, septiembre y octubre, siendo más recurrentes las infecciones ligeras y moderadas con mayores porcentajes de intensidad (~30 y 10% respectivamente). En cuanto a las infecciones severas, estas se mantuvieron con porcentajes por debajo del 3%. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$) entre las intensidades de grado 1 ($q = 7.85$), grado 2 ($q = 6.42$) y grado 3 ($q = 4.48$).

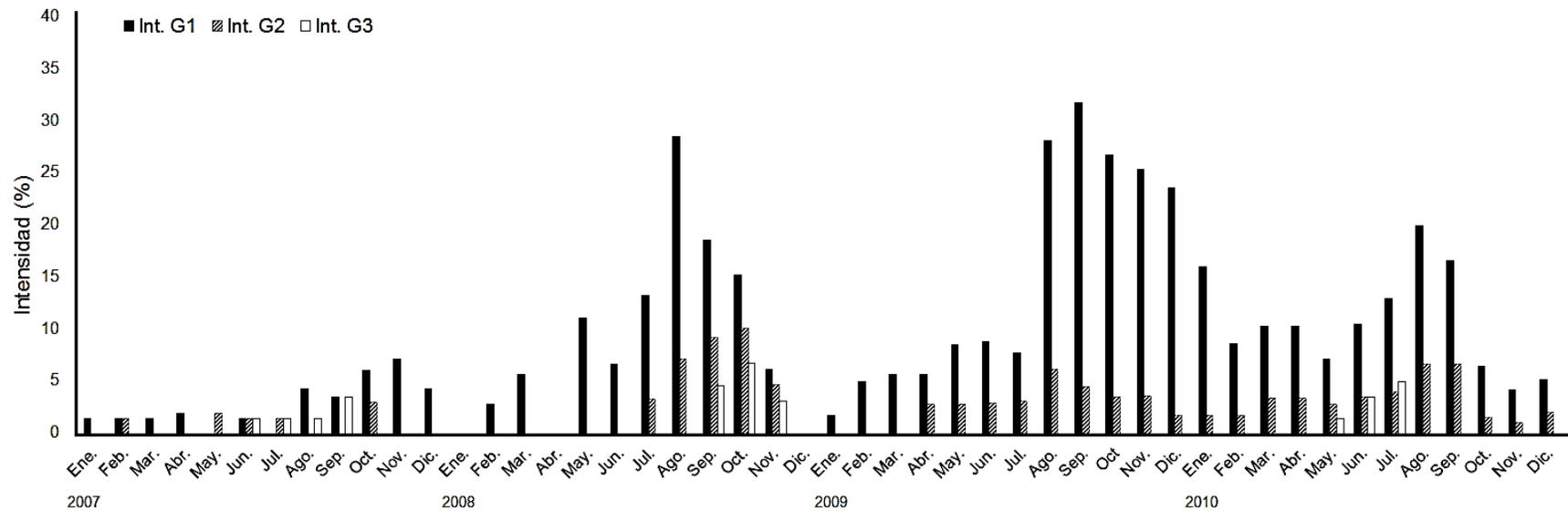


Figura 11.- Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* durante el periodo de estudio en Boca de Camichín.

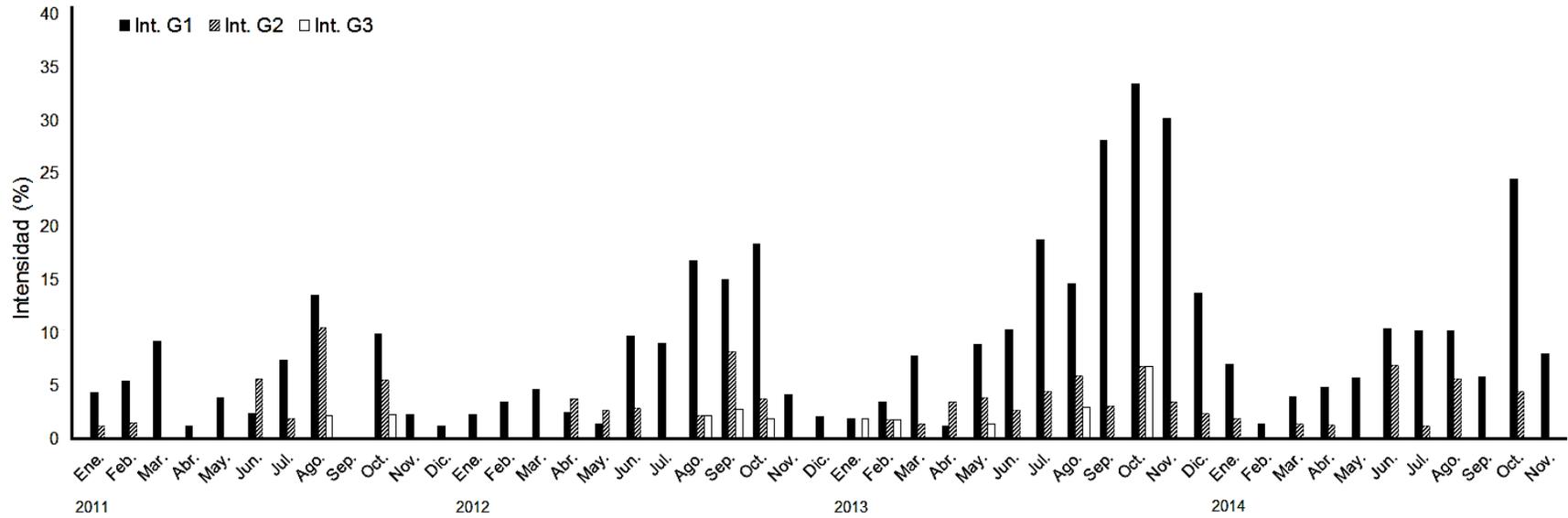


Figura 11.- Cont. Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* durante el periodo de estudio en Boca de Camichín.

En la figura 12 se observan las fluctuaciones de intensidad mensual en Pozo Chino durante el periodo de estudio, encontrando durante los meses de agosto, septiembre y octubre las intensidades más elevadas para los tres grados de intensidad, siendo más recurrente el grado 1 seguida de grado 2, con los máximos porcentajes de intensidad. Se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.001$) entre las intensidades de grado 1 ($q = 9.62$), grado 2 ($q = 7.14$) y grado 3 ($q = 6.48$).

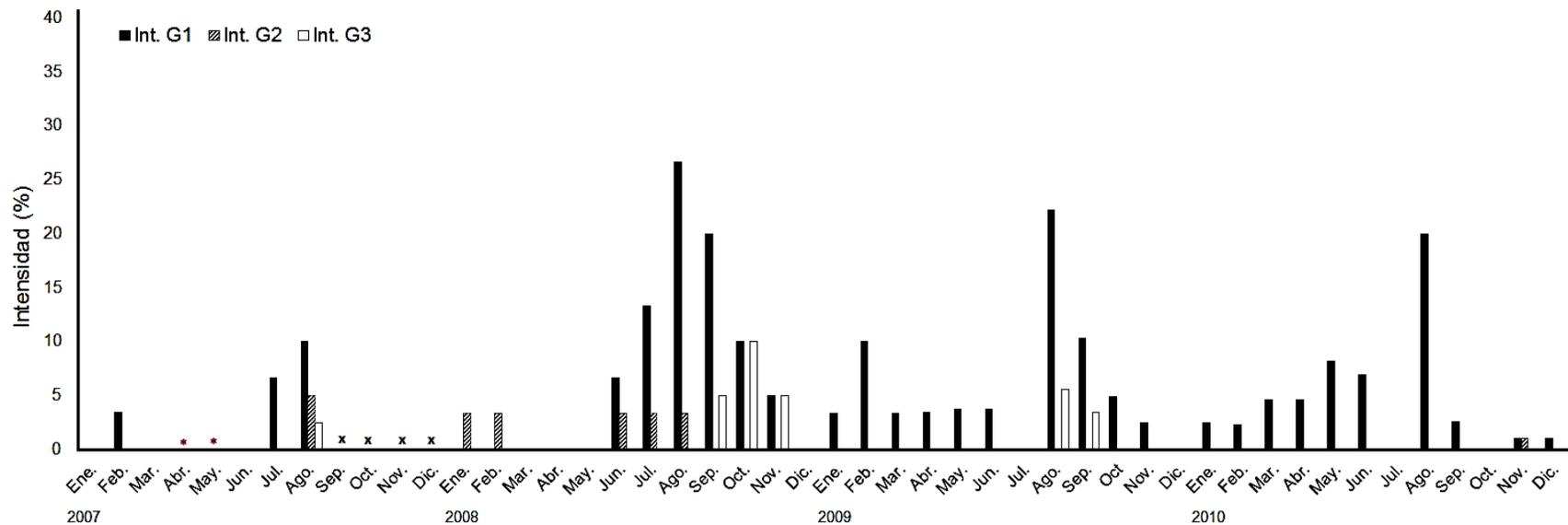


Figura 12.- Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* durante el periodo de estudio en Pozo Chino. Los asteriscos rojos (*) señalan los meses en los que no se realizó muestreo y las "X" muestran los meses en los que las muestras tenían una talla < 3 cm.

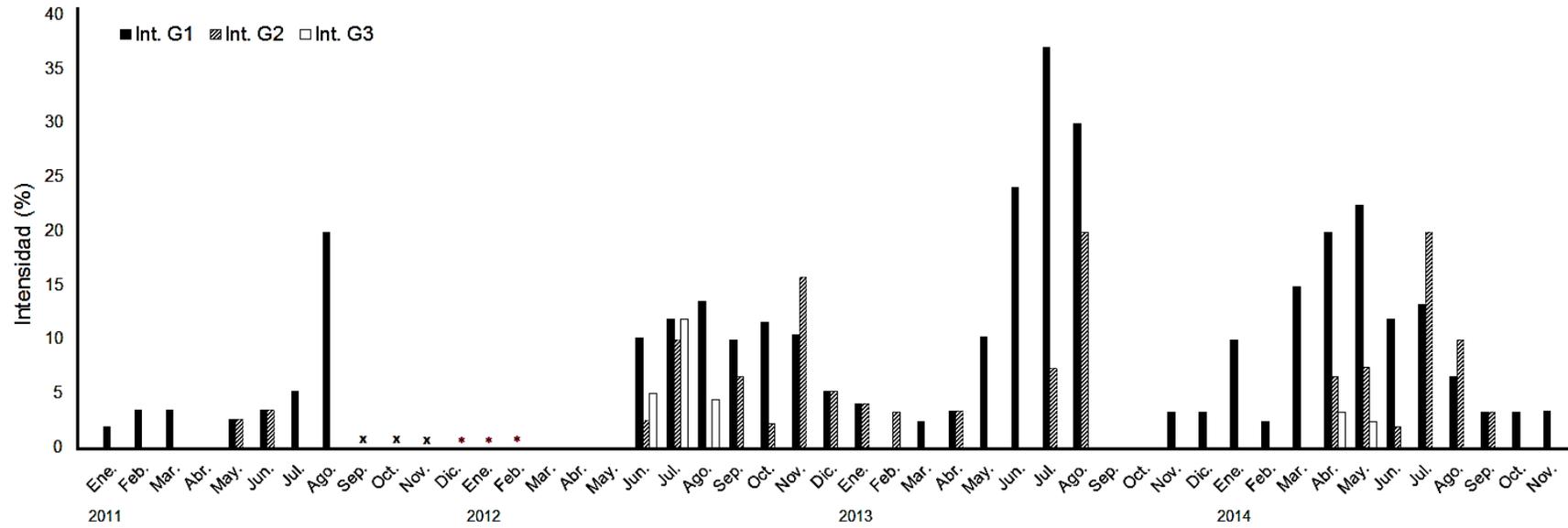


Figura 12.- Cont. Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* durante el periodo de estudio en Pozo Chino. Los asteriscos rojos (*) señalan los meses en los que no se realizó muestreo y las "X" muestran los meses en los que las muestras tenían una talla < 3 cm.

En la figura 13 se observan las fluctuaciones de intensidad promedio del conjunto de resultados de las dos localidades durante el periodo de estudio. Se presentan infecciones con mayor frecuencia durante los meses de agosto, septiembre y octubre, siendo las ligeras y moderadas las más recurrentes con una intensidad alrededor del 30 y 10% respectivamente. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$) entre las intensidades de grado 1 ($q = 15.55$), grado 2 ($q = 8.58$) y grado 3 ($q = 6.97$).

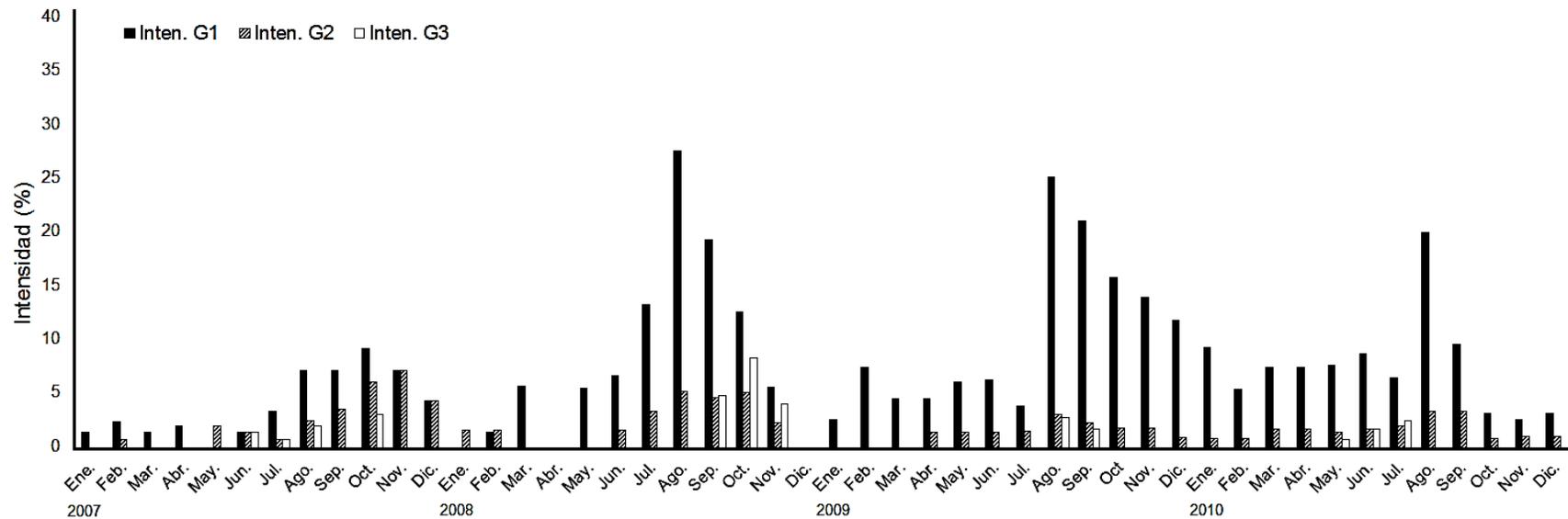


Figura 13.- Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* durante el periodo de estudio en Boca de Camichín y Pozo Chino.

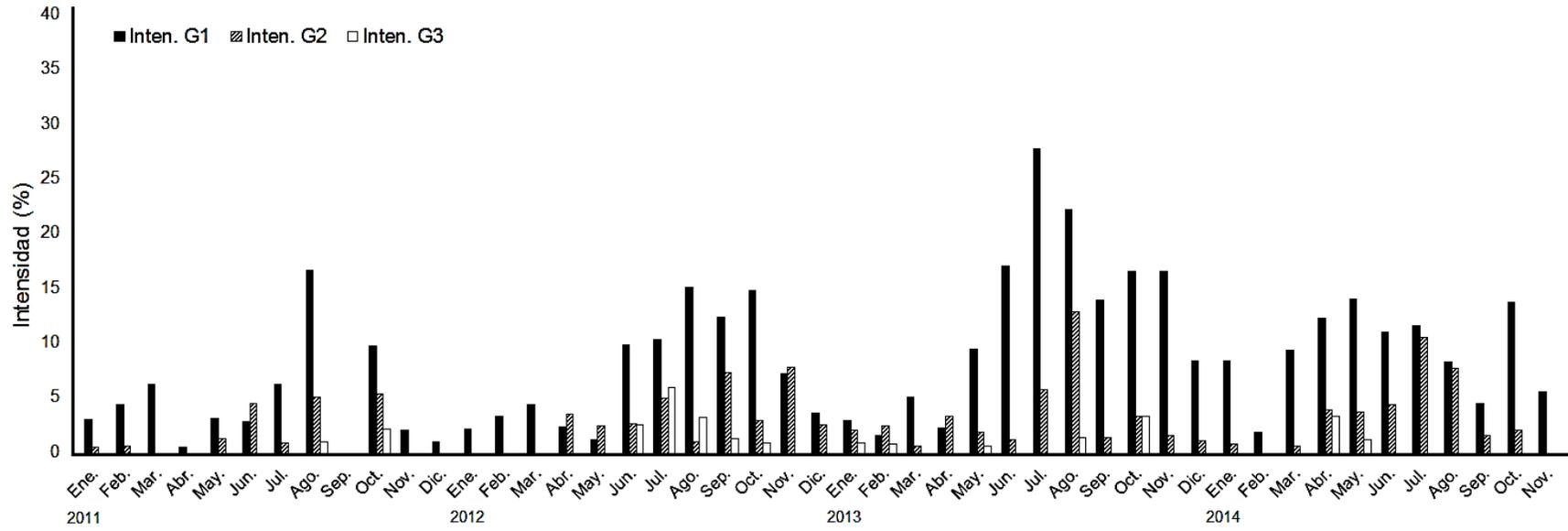


Figura 13.- Cont. Fluctuaciones de intensidad mensual de *P. marinus* durante el periodo de estudio en Boca de Camichín y Pozo Chino.

5.5.- Intensidad anual de *P. marinus* en Boca de Camichín y Pozo Chino

El promedio anual de intensidad de *P. marinus* en Boca de Camichín, presentó diferencias significativas ($P < 0.001$) entre los diferentes grados de intensidad. En la figura 14 se observan los tres grados de intensidad para Boca de Camichín, donde las intensidades moderadas y severas mantienen un comportamiento más o menos estable (~4%). Las intensidades severas se mantuvieron estables durante el periodo de estudio por debajo de 1.5%, no encontrándose diferencias entre ellas ($H = 10.070$, $P = 0.185$) entre los años de muestreo. Las intensidades ligeras tuvieron mayor variación con un promedio del 11%, excluyendo el año 2007 el cual presentó diferencias ($q = 0.563$, $P < 0.05$) respecto a los demás años de muestreo con una intensidad del 2.9%.

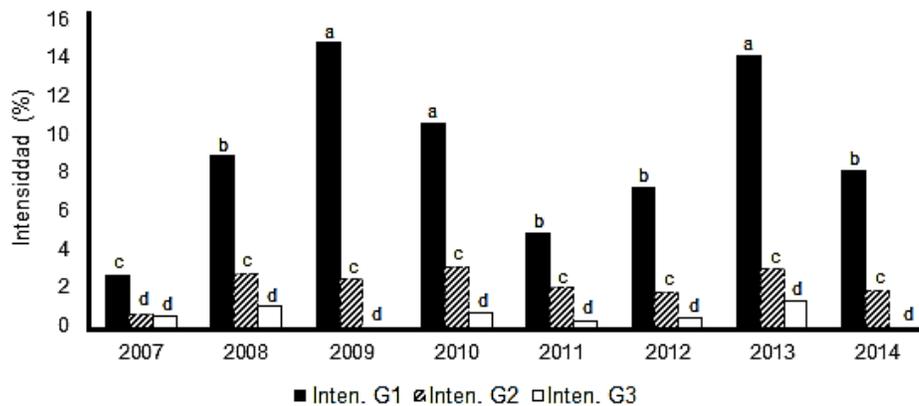


Figura 14.- Intensidad anual de *P. marinus* en Boca de Camichín. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

En Pozo Chino se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$) entre los diferentes grados de intensidad durante el periodo de estudio (fig. 15). La intensidad grado 1 predomina sobre las de grado 2 y 3, siendo la menos recurrente la de grado 3, asimismo se observa que las intensidades mayores se presentaron durante 2013 y 2014.

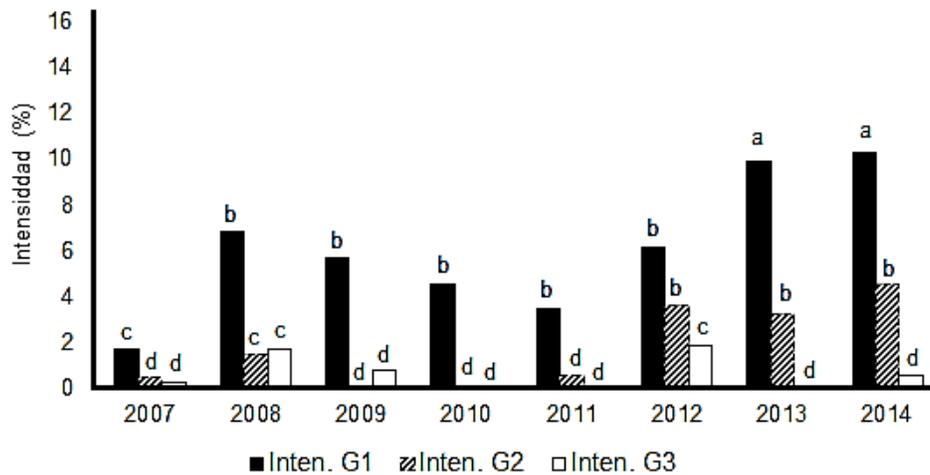


Figura 15.- Intensidad anual de *P. marinus* en Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

En cuanto al análisis para ambas localidades, se encontró que las infecciones moderadas y severas mostraron las menores intensidades en todos los años con valores menores al 3% en las infecciones moderadas y del 1% en las severas. Los porcentajes de mayor intensidad se presentaron en las infecciones ligeras durante los años 2008 al 2010 así como en 2013 y 2014, con intensidades promedio del 10%. Los valores medios para este grado de infección se encontraron en los años 2011 y 2012, con valores alrededor del 6% (Fig. 16).

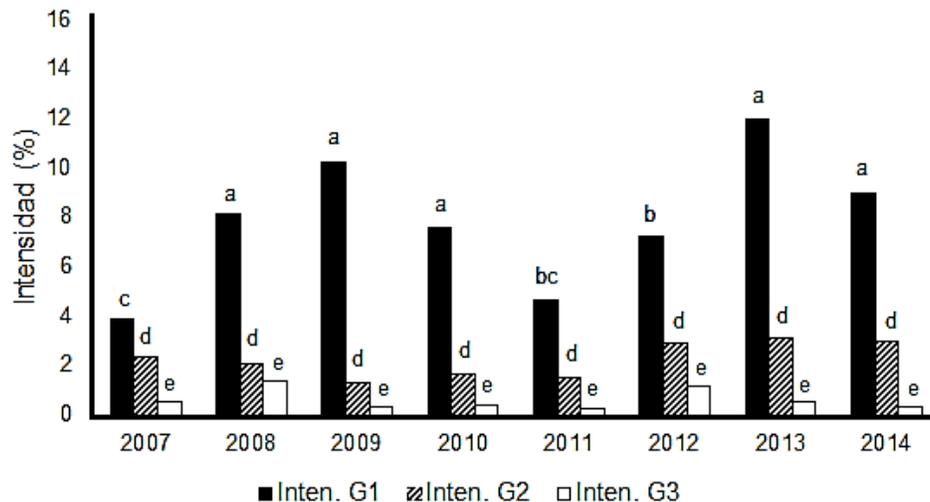


Figura 16.- Intensidad anual de *P. marinus* en Boca de Camichín y Pozo Chino. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

5.6.- Prevalencia e intensidad de *P. marinus* por sexos

La distribución de sexos de *C. corteziensis* en Boca de Camichín y Pozo Chino fue de 41% de machos, 37% de hembras y 22% indiferenciados, con una relación macho, hembra de 1.1 a 1.0.

Se encontró una prevalencia de 8.57% en machos, 14.34% en hembras y 4.27% en indiferenciados, con diferencias significativas, ($P = 0.001$) entre ellos (Fig. 17).

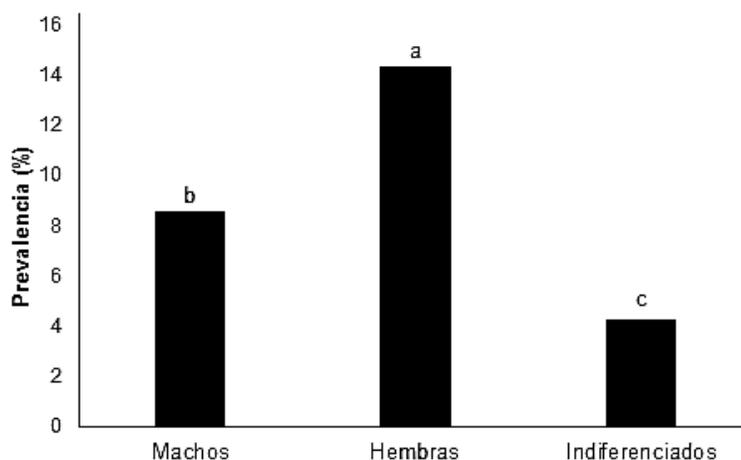


Figura 17.- Prevalencia de *P. marinus* por sexo. Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

Se observó un promedio de intensidad en las infecciones ligeras (G1) de 6.38%, moderadas (G2) 1.79% y severas (G3) de 0.59%. Comparando los tres grados de intensidad por sexos, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre machos ($q = 4.75$) y hembras ($q = 3.94$) con infecciones moderadas, así como entre los organismos con infecciones severas ($H = 10.793$, $P = 0.148$). En contraste se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre sexos en las infecciones ligeras, donde las hembras ($q = 3.98$) presentaron los porcentajes de intensidad mayores (Fig. 18).

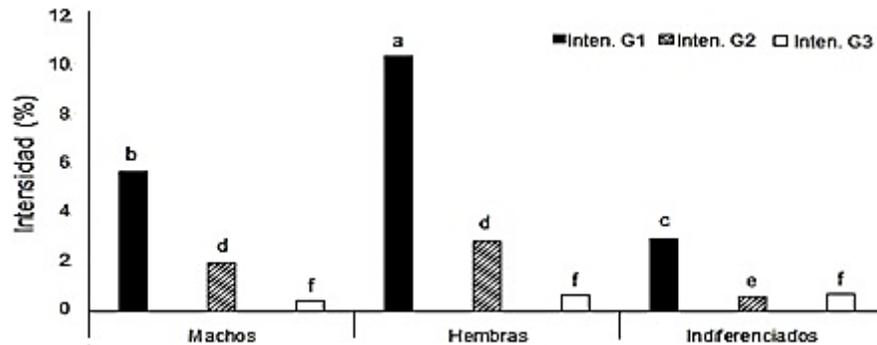


Figura 18.- Intensidad de *P. marinus* por sexo, grado 1 (G1), grado 2 (G2) y grado 3 (G3). Las letras diferentes muestran diferencias significativas.

5.7.- Canal endémico en Boca de Camichín y Pozo Chino

La clasificación de la prevalencia en Boca de Camichín en zonas de éxito, seguridad, alarma y epizootia que se usa en el canal endémico se muestra en la figura 19. Los niveles de prevalencia menores (< 5%) se presentan en los meses de enero a mayo aproximadamente, indicando que prevalencia mayores al 8% durante esta temporada posicionan a la localidad en un estado de epizootia. En contraste, las prevalencias mayores se presentan en los meses de agosto a octubre indicando que con prevalencias menores al 20% la zona se encuentra en un estado normal, cuando éstas prevalencias aumentan a intervalos de 23-31% las zonas se encuentran en un estado de seguridad-alarma, mientras que cuando los niveles de prevalencias son mayores al 31% la zona se encuentra en una epizootia.

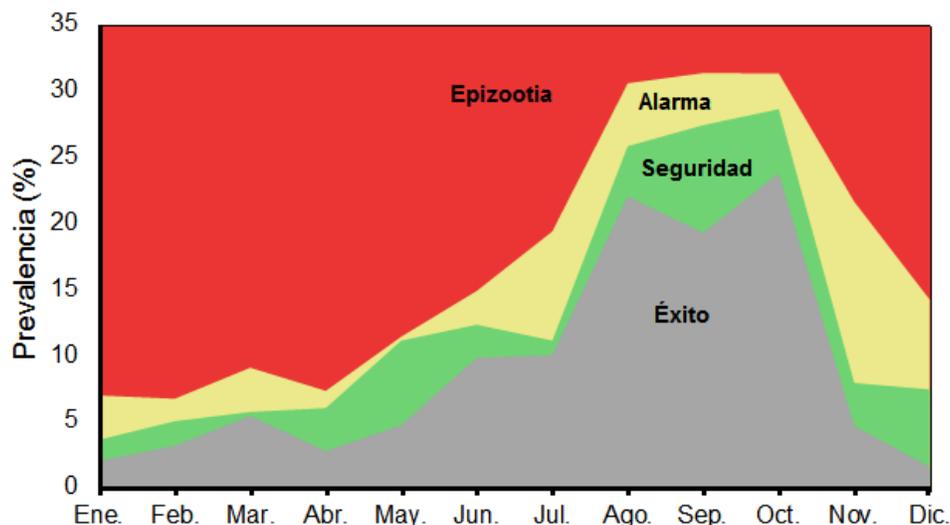


Figura 19.- Canal endémico para Boca de Camichín.

En Pozo Chino, durante el periodo de enero a abril aproximadamente se encuentran los niveles de menor prevalencia indicando que valores superiores al 8%, la zona se encuentra en una epizootia. En contraste, en los meses de julio a septiembre se presentan las prevalencias mayores, así, prevalencias menores al 20% indican que la zona se encuentra en un estado de éxito, cuando éstas se encuentran en intervalos de 21-30% las zonas se encuentran en un estado de seguridad-alarma, sin embargo, cuando los niveles de prevalencias sobrepasan el 30% la zona se encuentra en una epizootia (Fig. 20).

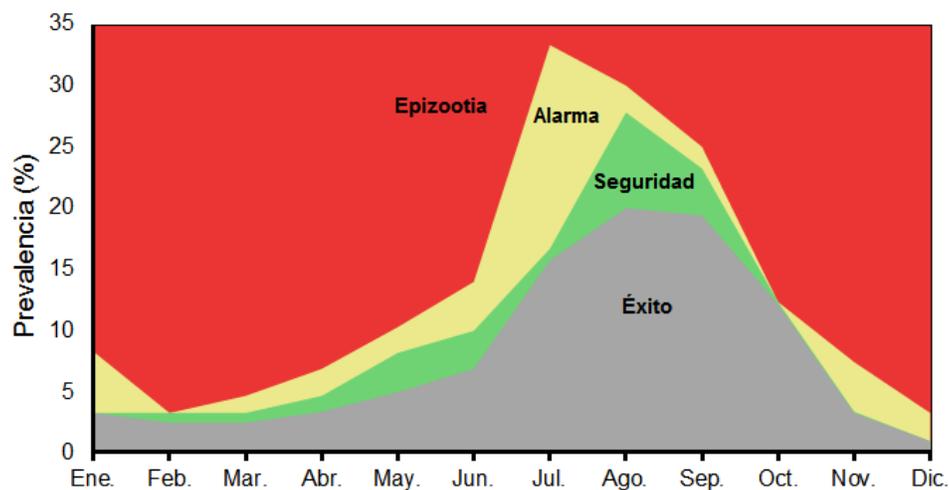


Figura 20.- Canal endémico para Pozo Chino.

Los resultados conjuntos se aprecian en la figura 21, con las zonas de éxito, seguridad, alarma y epizootia. Del periodo enero a abril aproximadamente se encuentran los niveles de menor prevalencia indicando que valores por arriba del 7% las zonas se encuentran es una epizootia. En contraste, en los meses de julio a octubre se presentan las prevalencias mayores, así, prevalencias menores al 21% indican que la zona se encuentra en un estado de éxito, cuando éstas se encuentran en intervalos de 26-30% las zonas se encuentran en un estado de seguridad-alarma, sin embargo, cuando los niveles de prevalencias incrementan al 30% la zona se encuentra en una epizootia.

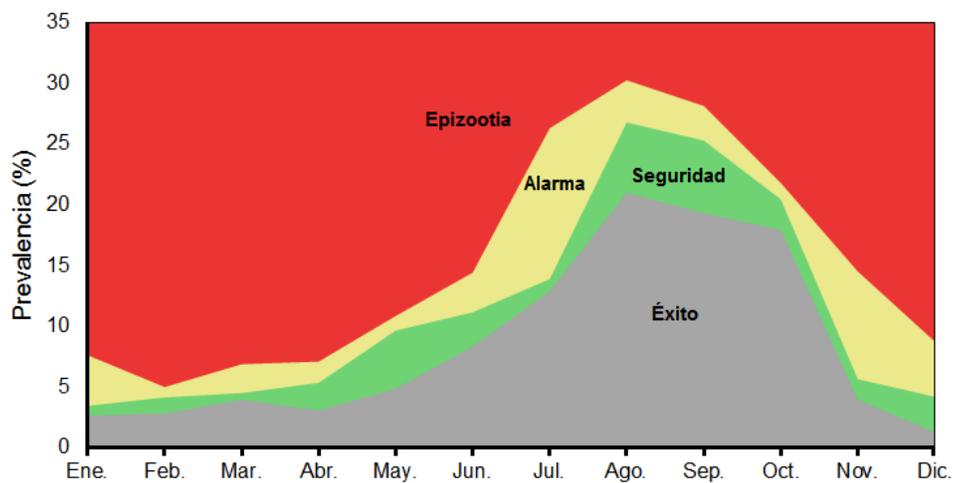


Figura 21.- Canal endémico para Boca Camichín y Pozo Chino

Capítulo 6.-Discusión

En el presente trabajo se encontró una clara fluctuación estacional de la prevalencia e intensidad de la infección por *P. marinus* en *C. corteziensis* común en ambas localidades; si bien en algunos años se observan diferencias entre ellas, éstas pueden ser atribuidas tanto a condiciones locales, como a un sesgo de muestreo, debido a que en Pozo Chino en algunas ocasiones no fue posible el muestreo y las tallas fueron ligeramente menores, pero el patrón general se conserva. Las prevalencias menores (6%) ocurrieron en invierno, cuando la temperatura y la salinidad fluctúan alrededor de 24 °C y 33 ups respectivamente; mientras que los mayores niveles de prevalencia (40%) ocurrieron durante el verano cuando la temperatura y salinidad se mantienen alrededor de 30 °C y 20 ups, respectivamente. Aunque la intensidad de la infección se incrementa en el verano, los casos severos de intensidad se mantienen por debajo del 10%. Andrews y Hewatt (1957) en su estudio en la Bahía de Chesapeake con el ostión Americano *Crassostrea virginica* encontraron que la prevalencia aumentaba hasta el 90% cuando se presentaban temperaturas máximas de 25 °C, siendo las temperaturas mayores a 20 °C las favorables para la proliferación de *P. marinus*. A pesar de la gran diferencia de temperaturas máximas registradas en verano en la Bahía de Chesapeake (25 °C) con las registradas en Boca de Camichín y Pozo Chino (30 °C), hay concordancia en que altas temperaturas parecen favorecer mayores niveles de prevalencia del parásito. Esto podría estar asociado con una alta tasa de multiplicación del parásito a altas temperaturas (Andrews, 1996; Ray, 1954; Andrews y Hewatt, 1957) y con la posible depresión de la capacidad de defensa fisiológica del huésped, ante temperaturas elevadas estresantes (Pipe y Coles 1995). A pesar de que en el presente trabajo no se presentaron prevalencias tan elevadas como las encontradas en Bahía de Chesapeake que superaron el 90% ocasionando episodios de mortalidad, sí se encontraron prevalencias máximas hasta del 40%, lo que sustenta la asociación entre aumento de temperaturas relativas y mayor prevalencia de *P. marinus*. Además de la marcada fluctuación estacional de la perkinsosis en la zona, se observó un posible patrón tetra-anual de fluctuación aparente de la prevalencia

con tendencia al aumento (2007-2010, 2011-2014), lo cual podría estar relacionada con eventos climáticos de mayor escala como el fenómeno de El Niño, los cuales se presentaron a finales del 2009 y mediados del 2013 ; Sin embargo, este aspecto requiere de un análisis detallado durante un mayor lapso de tiempo, ya que la ocurrencia cíclica de dicho fenómeno no parece ser la norma (NOAA, 2014). Adicionalmente es importante reconocer que por la naturaleza de los datos obtenidos, esta comparación debe tomarse como preliminar. Lo que resultó muy evidente, fue el marcado aumento de las temperaturas de invierno durante los ocho años de este estudio, lo que indica un aumento del calentamiento del agua en la zona que podría asociarse con el cambio climático (López-Vélez y Molina Moreno, 2005; Caballero *et al.*, 2010). Este importante cambio térmico podría contribuir a explicar el aparente aumento de la prevalencia de *P. marinus* (aumento aún más aparente en Pozo Chino) con el paso del tiempo. El personal del CESANAY registró episodios de mortalidad del 20 al 80% durante la ocurrencia de fuertes lluvias y desbordamiento de presas y ríos que se presentaron en la zona de estudio durante los años 2008, 2013 y 2014. Estos aportes masivos de agua dulce provocaron un descenso de la salinidad en los cultivos, lo que podría representar un factor de estrés ambiental adicional que afectó tanto al parásito como a su hospedero. En la zona de estudio, la temporada de altas precipitaciones pluviales ocurre en el verano, lo cual provoca una disminución de la salinidad en la zona costera, llegando a alcanzar un mínimo del 4 ups. De acuerdo con lo encontrado en la costa este de EUA, bajas salinidades están asociadas con bajas prevalencias del parásito (Paynter y Burreson, 1991). Sin embargo, en la zona estudiada ocurrió lo contrario, las mayores prevalencias se presentaron en épocas de baja salinidad. Esto indica una adaptación de la interacción parásito-hospedero-ambiente, particular a la zona de estudio. Otro estudio realizado en el Golfo de México por Crosby y Roberts (1990) reportó una baja correlación de la salinidad (0 a 3 ups), con la infección por *P. marinus*. Gullian-Klanian *et al.* (2008) en su estudio sobre los factores asociados con la prevalencia de *P. marinus* en *C. virginica* en Laguna de Términos, Campeche, encontraron un fuerte patrón estacional de la infección con las condiciones ambientales, pero a pesar de que la temperatura y la salinidad fueron lo

suficientemente altas para ocasionar un brote estacional de *P. marinus*, no se encontró una asociación de estas dos variables con las mortalidades. De igual manera Curiel-Ramírez *et al.* (2012) en una evaluación de la infección por *P. marinus* en *C. virginica* en los estados de Veracruz, Tabasco y Campeche, encontraron que los niveles de prevalencia fueron menores durante la temporada de lluvias, momento en el cual se presentaban las menores salinidades y temperaturas, lo que indica también una adaptación de la interacción parásito-hospedero-ambiente diferente a la reportada para la costa este de EUA (Paynter y Burreson, 1991). Con relación a los límites de tolerancia ambientales de cada especie recordemos que ambas ocupan un nicho ecológico equivalente (lagunas costeras) sin embargo *C. virginica* alcanza una distribución más norteña con relación a *C. corteziensis*, por lo que puede tolerar aguas más frías, (como las que ocurren en la parte este de EU), al parecer estas condiciones influyen en la interacción con *P. marinus* que se comporta más virulento en aquellas regiones. Por otro lado recordemos también que la susceptibilidad entre estas especies es diferente independientemente de sus límites de tolerancia ambientales intrínsecos.

Por otro lado, se encontró que los ostiones de 2 a 4.9 cm presentaron prevalencias menores, en comparación con los de 5 a 9.9 cm, encontrándose una asociación entre una mayor prevalencia a mayor talla. Respecto a la intensidad de la infección se conserva este mismo patrón a excepción de las intensidades severas. Estas observaciones coinciden con las de Mackin (1951), quien mencionó que en ostiones procedentes de Luisiana que aún no alcanzaban la talla comercial no se encontraban tan infectadas como los ostiones de tamaño comercial. Diversos autores han encontrado una asociación directa entre la prevalencia e intensidad de la infección y el tiempo de exposición del hospedero al parásito (Hofstetter y Danyulite, 1977; Ray, 1987; Soniat, 1996). Sin embargo, en infecciones experimentales, en donde se aplican o exponen hospederos sanos a altas cantidades del parásito, esta asociación se pierde (Andrews y Hewatt 1957). Soniat (1996) concluyó que si los ostiones de menor tamaño a menudo tienen niveles más bajos de infección, puede explicarse por el hecho de que éstos deben estar expuestos durante un tiempo suficiente para adquirir la infección y que la cantidad

de parásitos sea lo adecuada para infectarlos. En este sentido, es posible que una cosecha temprana de *C. corteziensis* en la zona, es decir, de ostiones pequeños, ayude a evitar que la infección por *P. marinus* progrese. En el presente estudio, no se encontraron diferencias de intensidad severa con relación a la talla lo que, nuevamente, sugiere que los mecanismos de defensa del hospedero están actuando independientemente de la talla. Gutiérrez-Rivera (2014) detectaron una respuesta más eficiente, por parte de *C. corteziensis* en comparación a *C. virginica*, debido a una alta expresión de genes relacionados a la defensa inmune, los cuales son activados en presencia de patógenos. Por su parte Guzmán Lerma (2014) en estudios de infectología en laboratorio encontró que, a pesar de haber sido expuesto a dosis consideradas letales para *C. virginica*, *C. corteziensis* apenas presentó infecciones ligeras. Estos resultados ayudan a explicar el porqué, rara vez se observan infecciones severas y sustentan el hecho de que *C. corteziensis* es menos susceptible a *P. marinus* (Gutiérrez-Rivera *et al.*, 2014; Guzmán Lerma, 2014).

Los estudios sobre la infección por *P. marinus* con relación al sexo del hospedero son escasos. Wilson *et al.* (1990), en un estudio en las lagunas costeras de la zona estadounidenses del Golfo de México encontraron que la intensidad de la infección por *P. marinus* no varió con el sexo o el estado de desarrollo reproductivo de *C. virginica*. Sin embargo, notaron que durante el periodo de estudio, *P. marinus* se encontraba en su intensidad mínima estacional y que los ostiones fueron recolectadas durante una temprana etapa reproductiva. Dittman *et al.* (2001) demostraron los efectos negativos del parásito durante la gametogénesis, pero estos autores no mencionan si estos efectos estuvieron relacionados con el género de los organismos. Ford y Figueras (1988) estudiaron los efectos en infecciones subletales por *Haplosporidium nelsoni*, otro protozoario parásito, con relación a la gametogénesis, desove y el sexo de *C. virginica* en la Bahía de Delaware en los Estados Unidos, encontrando un elevado número de infección en los ostiones hembras, lo cual podía tener varias explicaciones posibles; la primera es que las hembras son más propensas a la infección, la segunda es que las hembras infectadas son menos propensas a morir, y por último, que es menos probable que la gametogénesis temprana en las hembras se inhiba por la infección, en

comparación a de los machos. Estudios llevados a cabo en otros moluscos como *Ostrea puelchana* han demostrado que la infección por *Bonamia* sp. era independiente del sexo del hospedero (Kroeck et al., 2008). Cáceres-Martínez *et al.* (1995) encontraron que para *Ostrea edulis*, los niveles de infección por *Bonamia ostreae* eran independientes del desarrollo gonadal. En este sentido, es necesario realizar estudios detallados que ayuden a determinar si los mayores valores de prevalencia en los ostiones hembras infectados por *P. marinus* se deben a una interacción diferencial del parásito debido al género de su hospedero y, cómo ésta relación afecta a las poblaciones de *C. corteziensis* durante largos lapsos de tiempo.

La elaboración de canales endémicos para las zonas de estudio permite predecir oportunamente niveles anormales de la presencia de *P. marinus* y detectar las temporadas en que las infecciones son más severas, concluyendo que durante los meses de julio a octubre se esperan encontrar porcentajes de prevalencia más elevados, de hasta el 30%, lo cual posicionaría en una zona de alarma. Si las prevalencias superan estos porcentajes, nos enfrentaríamos a una epizootia. Los niveles normales y seguridad para esta temporada se encuentran con una prevalencia por debajo del 25%. Para el resto de los meses del año (enero-junio, noviembre y diciembre) la zona de epizootia se encuentra con porcentajes mayores al 14%, alarma cuando estos porcentajes oscilen entre el 10%, y la zona de seguridad se encuentre por debajo del 8%. Actualmente no existen trabajos sobre canales endémicos para la predicción de epizootias de *P. marinus* debido a que requieren monitoreo de por lo menos 7 años. Como se mencionó al inicio de este trabajo una metodología común para predecir el comportamiento de enfermedades infecciosas en medicina humana y veterinaria son los canales o corredores endémicos que curiosamente no se han aplicado a enfermedades infecciosas de organismos acuáticos, en este sentido, es recomendable utilizar esta valiosa herramienta.

Capítulo 7.- Conclusiones

- 1.- Existe un comportamiento estacional de la perkinsosis común en ambas localidades. Las mayores prevalencias se presentan durante la temporada de verano y las menores durante el invierno.
- 2.- La intensidad ligera y moderada siguen un patrón acorde a la estacionalidad de la prevalencia registrada durante el periodo de estudio.
- 3.- La intensidad severa se mantiene baja durante todo el periodo de estudio, independientemente de la estacionalidad.
- 4.- Los porcentajes bajos de infección severa, la ausencia de episodios de mortalidad asociados con las mismas y la información de laboratorio existente en la literatura, sustentan una menor susceptibilidad de *C. corteziensis* al parásito *P. marinus* en relación con *C. virginica*.
- 5.- La prevalencia de infección es mayor en ostiones con tallas superiores a 5 cm.
- 6.- Las infecciones severas se mantienen bajas independientemente de la talla de *C. corteziensis*.
- 7.- Las hembras tienen mayores grados de intensidad de infección por *P. marinus* que los machos.
- 8.- Los datos epizootiológicos recabados en este estudio muestran un patrón diferente al reportado para *C. virginica* de la costa este de EUA, lo que sugiere un proceso de interacción de la triada epidemiológica particular.
- 9.- La realización de canales endémicos es una herramienta de suma importancia para predecir el comportamiento de la perkinsosis de los años futuros y consecuentemente implementar medidas de bioseguridad.

Capítulo 8.- Recomendaciones

A pesar de la menor susceptibilidad de *C. corteziensis* a *P. marinus* y a la ausencia de episodios de mortalidades masivas asociadas con el parásito, se debe mantener el monitoreo constante de los cultivos para detectar los casos inusuales de prevalencia e intensidad de *P. marinus* y poder tomar las medidas de bioseguridad adecuadas, más aún en un escenario de calentamiento global. Entre las medidas de bioseguridad recomendadas están, la disminución de la densidad mediante cosechas parciales o totales, así como la revisión y extracción periódica de los organismos muertos. Es necesario mantener la limpieza periódica de los organismos y artes de cultivo para evitar condiciones de estrés, asimismo, es recomendable evitar realizar introducciones de *C. virginica* de la costa este de EUA y Golfo de México que pudieran traer consigo otras variedades de *P. marinus* con una mayor virulencia.

Es fundamental que los muestreos para la obtención de éste tipo de datos mantengan una uniformidad en cuanto a la localidad de muestreo, tamaño de muestra, tamaño de organismos y periodicidad, de tal forma que la información resultante tenga el mejor sustento posible.

Mantener bitácoras de registros diarios de variables ambientales para poder detectar anomalías específicas que puedan estar relacionadas con aumentos de la prevalencia e intensidad de *P. marinus*.

Lista de referencias

- Andrews, J. D. (1988). Epizootiology of the disease caused by the oyster pathogen *Perkinsus marinus* and its effects on the oyster industry. *American Fisheries Society Special Publication*, 18, 47-63.
- Andrews, J. D. (1980). A review of introductions of exotic oysters and biological planning for new importations. *Marine Fisheries Review*, 42(12), 1-11.
- Andrews, J. D., and Hewatt, W. G. (1957). Oyster mortality studies in Virginia. II. The fungus disease caused by *Dermocystidium marinum* in oysters of Chesapeake Bay. *Ecological Monographs*, 2-25.
- Andrews, J. D., and Ray, S. M. (1988). Management strategies to control the disease caused by *Perkinsus marinus*. *American Fisheries Society Special Publication*, 18, 257-264.
- Andrews, J. D. (1996). History of *Perkinsus marinus*, a pathogen of oysters in Chesapeake Bay 1950-1984. *Journal Shellfish Research*, 15(1), 13-16.
- Audemard, C., Ragone Calvo, L. M., Paynter, K. T., Reece, K. S., and Burreson, E. M. (2006). Real-time PCR investigation of parasite ecology: in situ determination of oyster parasite *Perkinsus marinus* transmission dynamics in lower Chesapeake Bay. *Parasitology*, 132(06), 827-842.
- Boffi, H., y Álvarez-Herrera, C. (1970). Contribución al estudio de las enfermedades transmisibles mediante el uso de algunos métodos estadísticos. *Salud Argentina*, 1, 13-97.
- Bortman, M. (1999). Elaboración de corredores o canales endémicos mediante planillas de cálculo. *Pan American Journal of Public Health*, 5, 1-8.
- Burreson, E. M., and Ragone-Calvo, L. M. R. (1996). Epizootiology of *Perkinsus marinus* disease of oysters in Chesapeake Bay, with emphasis on data since 1985. *Oceanographic Literature Review*, 12(43), 1265.
- Bushek, D., Ford, S.E., and Chintala, M.M. (2002). Comparison of in vitro-cultured and wild-type *Perkinsus marinus*. III. Fecal elimination and its role in transmission. *Diseases of Aquatic Organisms*, 51, 217-225.
- Caballero, M., Lozano-García, S., Vázquez-Selem, L., y Ortega, B. (2010). Evidencias de cambio climático y ambiental en registros glaciales y en cuencas lacustres del centro de México durante el último máximo glacial. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 62(3), 359-377
- Cáceres-Martínez, J., Robledo, J. A. F., and Figueras, A. (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 (NW Spain). *Aquaculture*, 130(1), 15-23.
- Cáceres-Martínez, J., Ortega, M. G., Vásquez-Yeomans, R., García, T. D. J. P., Stokes, N. A., and Carnegie, R. B. (2012). Natural and cultured populations of the mangrove oyster *Saccostrea palmula* from Sinaloa, Mexico, infected by *Perkinsus marinus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(3), 321-325.
- Cáceres Martínez, J., y Vásquez, Yeomans, R. (2008). Informes de resultados sanitarios en ostión de placer *Crassostrea corteziensis* al Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora (cosaes). (Documento interno). Instituto de Sanidad Acuícola, A.C.
- Cáceres Martínez, J., y Vásquez Yeomans, R. (2013). Enfermedades, parásitos y episodios de mortalidad de ostiones de importancia comercial en México y sus implicaciones para la producción. *Ciencia Pesquera*, 21, 10.
- Cáceres-Martínez, J., Vásquez-Yeomans, R., and Padilla-Lardizábal, G. (2010). Parasites of the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* cultured in Nayarit, Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health*, 22(3), 141-151.
- Cáceres-Martínez, J., Vásquez-Yeomans, R., Padilla-Lardizábal, G., and Del Río-Portilla, M.A. (2008). *Perkinsus marinus* in pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* from Nayarit, Pacific coast of México. *Journal of Invertebrate Pathology*, 99, 66–73.
- Cáceres-Puig, J. I., Abasolo-Pacheco, F., Mazón-Suastegui, J. M., Maeda-Martínez, A. N., and Saucedo, P. E. (2007). Effect of temperature on growth and survival of *Crassostrea corteziensis* spat during late-nursery culturing at the hatchery. *Aquaculture*, 272(1), 417-422.
- Collins, S. D. (1932). Excess mortality from causes other than influenza and pneumonia during influenza epidemics. *Public Health Reports (1896-1970)*, 2159-2179.
- Craig, A., Powell, E. N., Fay, R. R., and Brooks, J. M. (1989). Distribution of *Perkinsus marinus* in Gulf coast oyster populations. *Estuaries*, 12(2), 82-91.
- Crosby, M. P., and Roberts, C. F. (1990). Seasonal infection intensity cycle of the parasite *Perkinsus marinus* (and an absence of *Haplosporidium* spp.) in oysters from a South Carolina salt marsh. *Diseases of aquatic organisms*, 9(2), 149-155.
- Curiel-Ramírez-Gutiérrez, S., Huicab-Pech, Z., Castañeda-Chavez, M., Lango-Reynoso, F., y Carrillo-Alejandro, P. (2012). seasonal variation of *Perkinsus marinus* in the american oyster *Crassostrea virginica* from the Carmen-Machona Pajonal lagoon system in Tabasco, Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(S2).

- Dittman, D. E., Ford, S. E., y Padilla, D. K. (2001). Effects of *Perkinsus marinus* on reproduction and condition of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, depend on timing. *Journal Shellfish Research*, 20(3), 1025-1034.
- Ford, S. E., y Figueras, A. (1988). Effects of sublethal infection by the parasite *Haplosporidium nelsoni* (MSX) on gametogenesis, spawning, and sex ratios of oysters in Delaware Bay, USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 4, 121-133.
- Galtsoff, P.S. (1964). The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service*, 64, 480.
- Gullian-Klanian, M., Herrera-Silveira, J. A., Rodriguez-Canul, R., and Aguirre-Macedo, L. (2008). Factors associated with the prevalence of *Perkinsus marinus* in *Crassostrea virginica* from the southern Gulf of Mexico. *Diseases of aquatic organisms*, 79(3), 237.
- Gutiérrez Rivera, J. N. (2014). Evaluación de la respuesta inmune de la infección experimental del ostión del placer *Crassostrea corteziensis* y ostión americano *Crassostrea virginica* con el protozoario parásito *Perkinsus marinus*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León, México: 157 p.
- Guzmán Lerma, D. (2014). Cultivo in vitro de *Perkinsus marinus* y desarrollo de la infección en el ostión de placer *Crassostrea corteziensis*, bases para el establecimiento de medidas de bioseguridad. Tesis de Maestría en Acuicultura. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 70p.
- Navarro Barrera, A. (2011). Distribución, prevalencia e intensidad de *Perkinsus marinus*, parásito del ostión del placer *Crassostrea corteziensis*, en el estado de Nayarit, México. Tesis de Maestría en Acuicultura. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 66p.
- Hofstetter, R. P., y Danyluk, G. (1977). Trends in population levels of the American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin on public reefs in Galveston Bay, Texas.
- Kroeck, M. A., Semenas, L., y Morsan, E. M. (2008). Epidemiological study of *Bonamia* sp. in the native flat oyster, *Ostrea puelchana* from San Matías Gulf (NW Patagonia, Argentina). *Aquaculture*, 276(1), 5-13.
- Leal, A. L., Eslava Schmalbach, J., Álvarez, C., Buitrago, G., y Méndez, M. (2006). Endemic channels and bacterial resistance markers in third-level hospitals in Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 8, 59-70.
- López-Vélez, R., y Molina Moreno, R. (2005). Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Revista Española de Salud Pública*, 79(2), 177-190.

- Mackin, J. G. (1951). Histopathology of infection of *Crassostrea virginica* (Gmelin) by *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen, and Collier. *Bulletin of Marine Science*, 1(1), 72-87.
- Mackin, J. G. (1962). Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana. *Public Institute Marine Science University Texas*, 7, 132-229.
- Mackin, J. G., Owen, H. M., and Collier, A. (1950). Preliminary note on the occurrence of a new protistan parasite, *Dermocystidium maranum* sp in *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Science* 111, 328-329.
- Mazón-Suastegui, J.M. (1996). Cultivo de ostión japonés *Crassostrea gigas*. En Casas-Valdez, M y G. Ponce-Díaz (Eds.). Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. (pp. 650). (Vol. II). SEMARNAP-Gobierno del Estado de Baja California Sur-FAO-INAPESCA-UABCS-CIBNOR-CICIMAR-CETMAR.
- Navarro Barrera, A. (2011). Distribución, prevalencia e intensidad de *Perkinsus marinus*, parásito del ostión del placer *Crassostrea corteziensis*, en el estado de Nayarit, México. Tesis de Maestría en Acuicultura. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 66p.
- Padilla Lardizábal G. y Aguilar Medina, V. (2012). Manual de buenas prácticas y protocolo sanitario para el cultivo de ostión en el estado de Nayarit. Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit. Tepic, Nayarit, México. 37 p.
- Paynter, K. T., and Burreson, E. M. (1991). Effects of *Perkinsus marinus* infection in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*: II. Disease development and impact on growth rate at different salinities. *Journal Shellfish Research*, 10(2), 425-431.
- Perkins, F. O. (1996). The structure of *Perkinsus marinus* (Mackin, Owen and Collier, 1950) Levine, 1978 with comments on taxonomy and phylogeny of *Perkinsus* sp. *Journal of Shellfish Research*, 15(1), 67-87.
- Pineda García T. J. (2011). Distribución y prevalencia de *Perkinsus marinus* y herpesvirus oshv-1 en *Crassostrea corteziensis* y *Crassostrea gigas* en el estado de Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, ac. Mazatlán, Sinaloa. 60 p.
- Pipe, R. K., and Coles, J. A. (1995). Environmental contaminants influencing immunefunction in marine bivalve molluscs. *Fish & Shellfish Immunology*, 5(8), 581-595.

- Powell, E. N., Klinck, J. M., y Hofmann, E. E. (1996). Modeling diseased oyster populations. II. Triggering mechanisms for *Perkinsus marinus* epizootics. *Journal of Shellfish Research*, 15(1), 141-165.
- Quick, J. A., y Mackin, J. G. (1971). Oyster parasitism by *Labyrinthomyxa marina* in Florida. *Florida Department Natural Resources*. professional paper services 13, 1-55.
- Ragone-Calvo, L. M., and Bureson, E. M. (2003). Status of the major oyster diseases in Virginia 2002. A summary of the annual monitoring program. Virginia Institute of Marine Science Marine Resource Report, Gloucester Point, VA.
- Ragone-Calvo, L. M., Wetzel, R. L., and Bureson, E. M. (2000) Development and verification of a model for the population dynamics of the protistan parasite, *Perkinsus marinus*, within its host, the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*, in Chesapeake Bay. *Journal Shellfish Research*, 20, 231–241.
- Ragone-Calvo, L. M., Dungan, C. F., Roberson, B. S., and Bureson, E. M. (2003). Systematic evaluation of factors controlling *Perkinsus marinus* transmission dynamics in lower Chesapeake Bay. *Diseases of Aquatic Organisms*, 56, 75-86.
- Ray, S. M. (1987). Salinity requirements for the American oyster, *Crassostrea virginica*: A. 1. Mueller & G. A. Matthews (Eds.). Freshwater In flow Needs of the Matagorda Bay System With Focus on Penaeid Shrimp. (pp. E1-E28). U.S. Dept. of Cornrnerce, Technical Memorandum. NMFS-SEFC-189, NOAA.
- Ray, S. M. (1954). Biological studies of *Dermocystidium marinum*, a fungous parasite of oyster. Doctoral Thesis in Science. Rice Institute. Houston, Texas. United States of America. 119 p.
- Shaw, B. L., and Battle, H. I. (1957). The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Canadian Journal of Zoology*, 35(3), 325-347.
- Soniat, T. M. (1996). Epizootiology of *Perkinsus marinus* disease of eastern oysters in the Gulf of Mexico. *Oceanographic Literature Review*, 12(43), 1265.
- Soniat, T. M. (1985). Changes in levels of infection of oysters by *Perkinsus marinus*, with special reference to the interaction of temperature and salinity upon parasitism. *Gulf Mexico Science Journal*, 7(2), 171-174.
- Soniat, T. M., and Gauthier, J. D. (1989). The prevalence and intensity of *Perkinsus marinus* from the mid northern Gulf of Mexico, with comments on the relationship of the oyster parasite to temperature and salinity. *Tulane Studies in Zoology and Botany*, 27(1), 21-27.

- Stuardo, J., y Martínez, A. (1975). Relaciones entre algunos factores ecológicos y la biología de poblaciones de *Crassostrea corteziensis* Hertlein 1951, de San Blas, Nayarit, México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma de México, 2, 1-51.
- Villalba, A., Gestal, C., Casas, S. M., y Figueras, A. (2011). Perkinsosis en moluscos. En; Enfermedades de moluscos bivalvos de interés en acuicultura. A. Figueras y B. Novoa. Cordinadores. Fundación Observatorio Español de Acuicultura, Madrid, 181-242.
- Vivier, E. (1982). Réflexions et suggestions à propos de la systématique des sporozoaires: création d'une classe des Hematozoa. *Protistologica*, 18, 449-457.
- Wilson, E. A., Powell, E. N., Craig, M. A., Wade, T. L., Brooks, J. M. (1990). The distribution of *Perkinsus marinus* in gulf coast oysters: its relationship with temperature, reproduction, and pollutant body burden. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie*, 75(4), 533-550.