



VARIACIÓN ESTACIONAL DE *Perkinsus marinus* EN EL OSTIÓN AMERICANO *Crassostrea virginica* DEL SISTEMA LAGUNAR CARMEN-MACHONA-PAJONAL EN TABASCO, MÉXICO

[SEASONAL VARIATION OF *Perkinsus marinus* IN THE AMERICAN OYSTER *Crassostrea virginica* FROM THE CARMEN-MACHONA-PAJONAL LAGOON SYSTEM IN TABASCO, MEXICO]

Zulema G. Huicab-Pech¹, Sergio Curiel-Ramírez^{1*}, María Castañeda-Chávez¹, Fabiola Lango-Reynoso¹ y Patricia Carrillo-Alejandro²

¹Instituto Tecnológico de Boca del Río, División de Estudios de Posgrado e Investigación. Km 12, Carretera Veracruz-Córdoba, Apdo. Postal. 68. CP. 94290, Boca del Río, Veracruz, México.

²Instituto Nacional de Pesca, México. Pitágoras 8, Piedad Narvarte, Benito Juárez, CP. 03310, Ciudad de México, México.

*Autor para correspondencia: scuriel73@hotmail.com

RESUMEN

En el Golfo de México la pesquería del ostión *Crassostrea virginica* es el principal recurso por su volumen de captura anual. Sin embargo, se ve afectada por el parásito *Perkinsus marinus* que causa la enfermedad del Dermo. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia y grado de infección de *P. marinus* en *C. virginica* en Tabasco, México, durante las estaciones de lluvias, nortes y secas. Se analizaron muestras de ostiones de seis bancos del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal, Tabasco. Tejidos de ostiones infectados se incubaron en medio fluido de tioglicolato, resultando hipnosporas de color azul-negro después de la incubación. El análisis histopatológico de las muestras evidenció alteraciones de tejidos y presencia de formas parasitarias características de infección por *P. marinus*, tales como tomontes y trofozoítos. La identidad del parásito fue confirmada por PCR basado en muestras de ADN de los ostiones. La prevalencia de *P. marinus* en las estaciones de lluvias, nortes y secas fue 73.3, 90 y 100%, respectivamente, y el grado de infección fue 2, 3 y 5 en escala de Mackin, respectivamente. Existió relación de la prevalencia y del grado de infección con respecto al aumento de la temperatura y la salinidad, siendo la estación de secas la más crítica.

Palabras clave: *Perkinsus marinus*; prevalencia; grado de infección; histología; PCR.

INTRODUCCIÓN

México ocupa el sexto lugar mundial en la captura de ostión con 47 541 t anuales, divididas en 6% que le corresponden al Pacífico y 94% al Golfo de México (AEAP, 2010). Por otro lado, el Golfo de México cuenta con 24 sistemas lagunares a lo largo de los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y

SUMMARY

In the Gulf of Mexico, the fishery of the oyster *Crassostrea virginica* is the main resource because of its volume of annual capture. However, it is affected by the parasite *Perkinsus marinus* that causes the Dermo disease. The objective of the study was to determine the prevalence and degree of infection of *P. marinus* in *C. virginica* in Tabasco, Mexico, during the rainy, windy and dry seasons. Samples of oysters from six banks from the Carmen-Machona-Pajonal lagoon system in Tabasco were analyzed. Tissues of infected oysters were incubated in fluid thioglycollate medium, resulting in blue-black hypnospores after incubation. The histopathological analysis of the samples showed tissue alterations and the presence of parasitic forms which are characteristic of *P. marinus* infection, such as tomonts and trophozoites. The identity of the parasite was confirmed by PCR based on DNA samples from oysters. Prevalence of *P. marinus* in the rainy, windy and dry seasons was 73.3, 90 and 100%, respectively, and the degree of infection was 2, 3 and 5 in the Mackin scale, respectively. There was a relationship between the prevalence and degree of infection with an increase of temperature and salinity, being the dry season the most critical season.

Key words: *Perkinsus marinus*; prevalence; degree of infection; histology; PCR.

Campeche (Contreras y Zabalegui, 1988). En estas lagunas se desarrollan importantes pesquerías, como la del ostión americano *Crassostrea virginica*, la cual representa una importante actividad ribereña con gran tradición entre los pobladores, con un aporte a la economía nacional de 195 536 millones de pesos (AEAP, 2010). Entre estas lagunas se ubican las del Carmen, Machona y Pajonal, las cuales se caracterizan

por su alta productividad y diversidad biológica (Bello *et al.*, 2009), con velocidad de corrientes de 0.0-200 cm/seg, que depende de la presencia de mareas de la boca de Santa Ana y Panteones, con amplitudes de 0.60 m (Gutiérrez-Estrada y Galaviz-Solís, 1983). A partir del año 1992 estas lagunas se han visto afectadas por la sobreexplotación pesquera y las variaciones ambientales, lo que ha provocado la aparición de enfermedades, como la ocasionada por el parásito *Perkinsus marinus* (Aguirre-Macedo *et al.*, 2004; Rodríguez y Barrera, 2004). Este parásito se considera desde 1940 como la principal enfermedad del ostión americano, la cual causó el 95% de mortalidad en los bancos ostrícolas de *C. virginica* en las Bahías de Chesapeake, Delaware, Connecticut y Florida, EUA (Pronalsa, 2002, 2007).

En México, los primeros registros de la presencia de *P. marinus* datan de 1962 en ostiones de la Laguna Madre, Campeche, y a finales de la década de 1990 se presentó en los estados de Tabasco y Veracruz (Aguirre-Macedo *et al.*, 2007). En el estado de Tabasco, a partir de 1994 se ha presentado disminución en la producción del ostión *C. virginica* y se han registrado prevalencias de *P. marinus* de entre 60 y 100% (Bureson *et al.*, 1994). Sin embargo, hay poca información sobre la distribución y abundancia de *P. marinus* en las costas del Golfo de México. Actualmente ha sido detectado en las costas del Pacífico en la especie de ostión *C. corteziensis*, anteriormente considerada libre del parásito (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008).

Algunos factores que influyen en la proliferación y prevalencia de *P. marinus* son la salinidad y temperatura (Chu, 1996; Ford y Tripp, 1996; O'Farrell *et al.*, 2000), la contaminación antropogénica y el estado nutricional del ostión (Bello *et al.*, 2009). Otro factor importante es la exposición a hidrocarburos de petróleo, metales pesados y plaguicidas; entre estos últimos destacan los organoclorados, los cuales provocan problemas en las defensas fisiológicas de los ostiones propiciando la aparición de la enfermedad (Botello *et al.*, 2002). De acuerdo con la Organización Internacional de Epizootias (OIE), en ostiones *P. marinus* se asocia con el desarrollo retardado de las gónadas, rompimiento del tejido conectivo y de células epiteliales, retracción del manto y glándula digestiva pálida. Algunas investigaciones han establecido pruebas presuntivas y confirmativas para la presencia de *P. marinus*. Dentro de las presuntivas se encuentra el medio fluido de tioglicolato (Ray, 1966), que se consideró como una opción para el diagnóstico rápido y barato. Por su parte, entre las pruebas confirmativas están los medios de cultivo celular, exámenes histológicos y técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (OIE, 2006).

Existe solamente un estudio realizado en el sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal que indica la prevalencia y el grado de infección de *P. marinus*, aunque el análisis sólo se realizó con la técnica del medio fluido de tioglicolato. Por lo tanto, los objetivos del presente estudio fueron evaluar la prevalencia y el grado de infección de *P. marinus* en ostiones del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal, en Tabasco, México, a través del medio fluido de tioglicolato, histopatología y PCR, así como establecer si existe relación entre la prevalencia de *P. marinus* y los parámetros de temperatura, salinidad y clorofila *a* de las zonas de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal se encuentra ubicado entre 18°15' a 18° 30' Lat. N y 93° 30' a 93° 53' Long. O, en Tabasco, México. Dentro del sistema lagunar se eligieron seis bancos de ostiones debido a su persistencia a lo largo del año. El banco 1 (B1) se localizó en la laguna del Carmen, cerca de la desembocadura del Río San Felipe; los bancos 2 (B2), 3 (B3) y 4 (B4) se ubicaron a lo largo del Pajonal (canal de conexión), entre la laguna del Carmen y la Machona; los bancos 5 (B5) y 6 (B6) se localizaron en la laguna de la Machona (Figura 1). En todos los bancos se realizaron tres muestreos: el primero en noviembre 2010, el segundo en marzo 2011 y el tercero en mayo 2011, que corresponden a las épocas de lluvias, nortes y secas, respectivamente, de acuerdo con lo indicado por Marín-Mezquita *et al.* (1997). Durante cada muestreo, con ayuda de rastillos o gafas se recolectaron por banco 10 organismos con tallas de 6.4 ± 1.2 cm, y al mismo tiempo se realizó la toma de parámetros físico-químicos *in situ* de temperatura (°C) y salinidad (ppm) del agua con una sonda multiparamétrica YSI 556 MPS, al igual que se tomó una muestra de 1.5 L de agua para determinar la clorofila *a* según la técnica descrita por Strickland y Parsons (1972). Posteriormente, los ostiones se transportaron en bolsas de polietileno mantenidas en hieleras a 4 °C (NOM-109-SSA1-1994; DOF, 1994) al laboratorio LIRA del Instituto Tecnológico de Boca del Río, Veracruz.

Análisis en fresco

Al llegar los ostiones al laboratorio se procedió a su análisis en fresco. Para ello, los organismos fueron lavados y abiertos insertando un cuchillo entre las valvas del arco del umbo; se cortó el músculo aductor tratando de no dañar el tejido interno y se procedió a una inspección ocular con el fin de observar los signos característicos de la presencia de *P. marinus*, como puntos blancos en el músculo aductor, laceración branquial y coloración pálida en el manto.

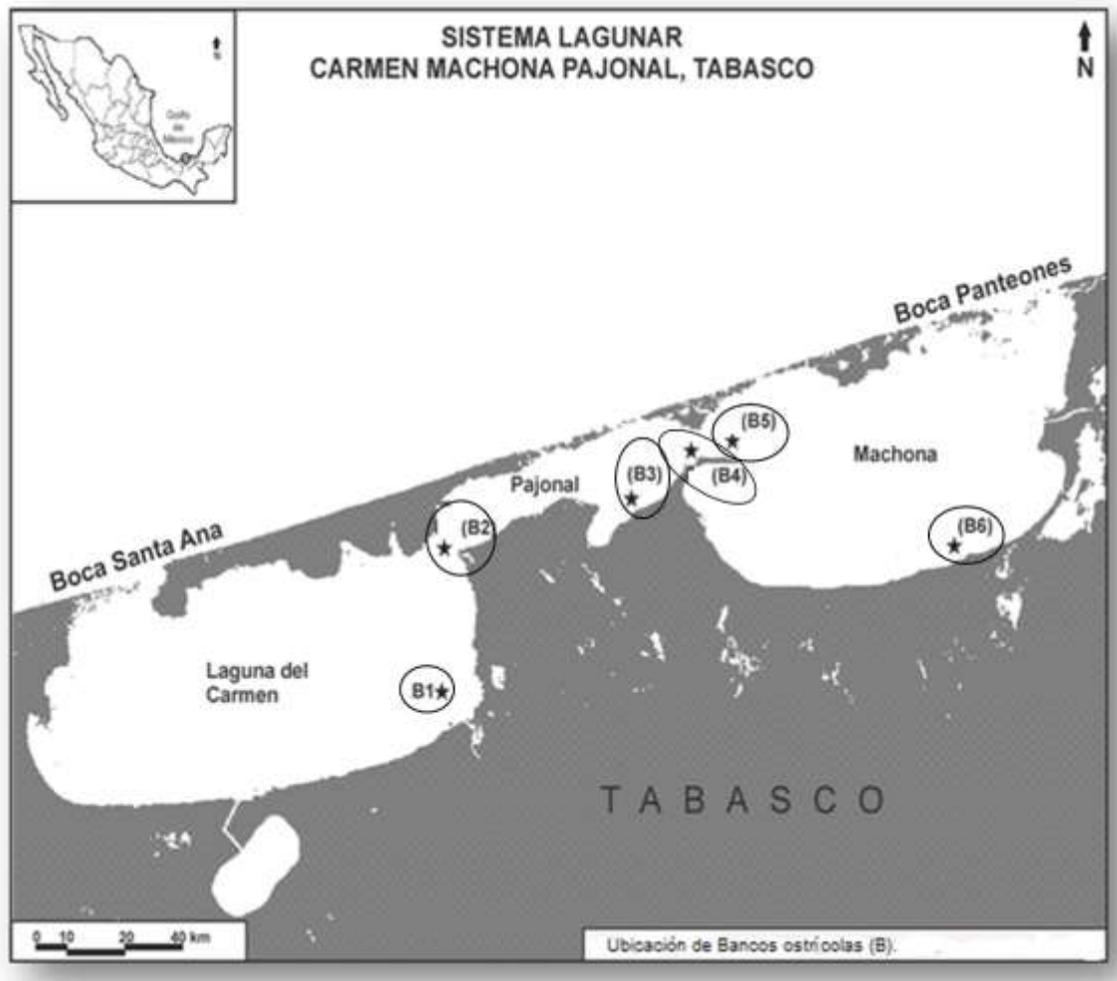


Figura 1. Sistema Lagunar Carmen-Machona-Pajonal en el estado de Tabasco, México, y ubicación de los bancos ostrícolas incluidos en el estudio a lo largo del sistema.

Análisis en por medio fluido de tioglicolato (MFT)

El análisis por MFT (Ray, 1966; Karolus *et al.*, 2000) se llevó a cabo en las épocas de nortes y secas. Para ello, se tomó parte del manto, branquias y recto de cada ostión y se incubaron por seis días en la oscuridad en MFT, con el fin de inducir la formación de hiposporas de *P. marinus*. Posteriormente, se agregó lugol a cada muestra y se examinaron en un microscopio compuesto a 40 y 100X para determinar la presencia de *P. marinus*. La prevalencia se calculó mediante la fórmula de Thrusfield (1995), considerando el número de ostiones infectados en la muestra, expresados en porcentaje. El grado de infección fue medido con relación al rango 0 a 5 de la escala de Mackin (1962). Dicha escala corresponde a: 1) no infectado = no hay células de *P. marinus*; 2) de 1 a 10 células de *P. marinus*; 3) de 11 a 30 células de *P. marinus*; 4) de 31 a 100 células de *P. marinus*; y 5) más de 101 células de *P. marinus*.

Análisis por histología

El cuerpo blando de cada ostión fue fijado mediante líquido de Davidson's. Se realizó un corte transversal en la parte anterior del ostión, que incluyó tejido del manto, branquias y glándula digestiva. Se cortaron secciones histológicas de 5 μ m de grosor y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Posteriormente, se examinaron utilizando un microscopio compuesto a 10X, 40X y 100 X para determinar la presencia y prevalencia de *P. marinus*, así como el daño en los tejidos causados por el parásito (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008).

Extracción, purificación y secuenciación

Las muestras utilizadas para este proceso se mantuvieron en una solución de alcohol al 90%. La extracción de ADN fue por medio del kit comercial Wizard Genomic DNA Purification kit® (Promega Corp.). Para el análisis de PCR se utilizó la región NTS especialmente para *P. marinus* (Marsh *et al.*,

1995; Robledo *et al.*, 1998, 1999). Se utilizó un par de cebadores, primer F (5'- CAC TTG TAT TGT GAA GCA CCC - 3') y primer R (5'- TTG GTG ACA TCT CCA AAT GAC - 3'), según lo indicado por Cáceres-Martínez *et al.* (2008). La mezcla de PCR fue preparada como sigue: 100 ng de ADN, 0.4 mM de cada cebador (F y R), 6 U de Taq polimerasa, 0.15 mM de MgCl₂, 0.3 x Buffer y 4 mM de dNTP'S con un volumen final de 25 µl. Para la amplificación se utilizó la técnica descrita por Cáceres-Martínez *et al.* (2008). La etapa de desnaturalización cumplió un ciclo a 91 °C por 3 min; la alineación fue de 35 ciclos a 91 °C por 1 min, 58 °C por 1 min y 72 °C por 1 min, y la etapa de elongación cumplió un ciclo a 72 °C por 1 min. El control positivo tuvo 1 µl de ADN de la muestra y el control negativo 1 µl de agua libre de nucleasas. Las amplificaciones se analizaron en gel agarosa al 2% preteñido con bromuro de etidio, en una cámara de electroforesis Maxicell EC360M, añadiendo una solución TAE 1x (Tris-Acetato-EDTA), y se visualizaron mediante un transiluminador UV.

Análisis estadístico

Se empleó análisis de varianza bifactorial y regresión lineal para comparar las variables de temperatura y salinidad con relación a la intensidad de infección ($\alpha=0.05\%$). Los datos fueron evaluados con sus respectivas pruebas de homocedasticidad (Taro, 1999) y procesados con el Software Statistic ver. 7.0.

RESULTADOS

Análisis macroscópico

En el análisis en fresco de los ostiones se observaron signos característicos de la presencia del parásito *P. marinus*, como débil cierre de valvas, puntos blancos en el músculo aductor, branquias laceradas y coloración pálida en el manto y glándula digestiva (Figura 2).

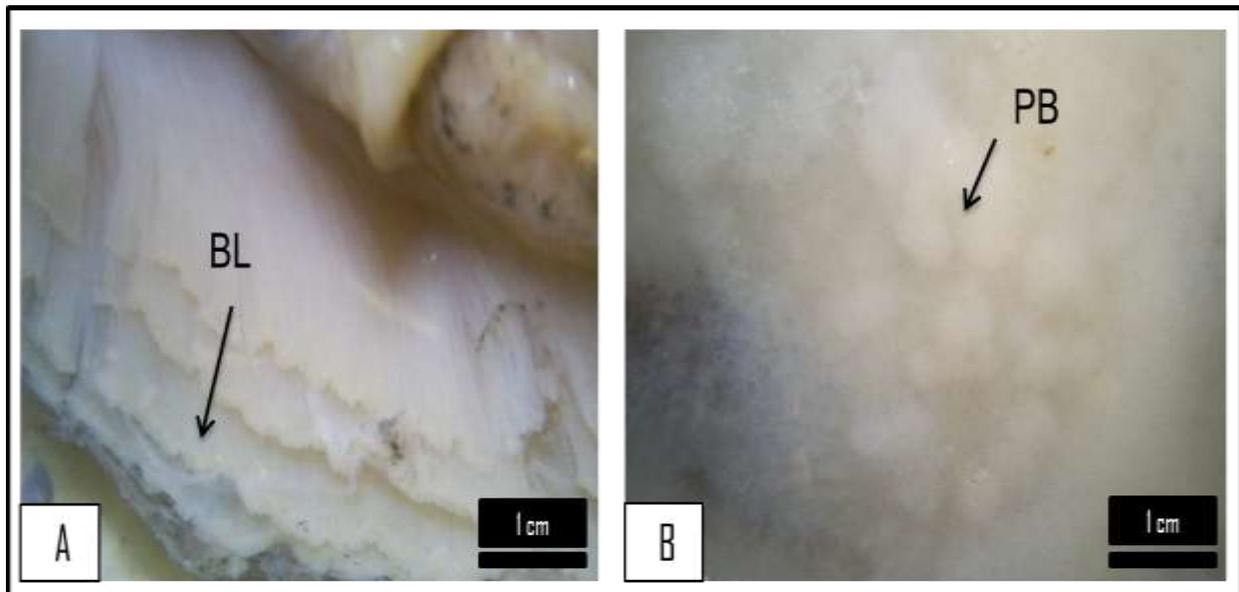


Figura 2. Daños observados en la revisión macroscópica de *Perkinsus marinus* (A y B). Branquias laceradas (BL) y puntos blancos (PB) en el músculo aductor.

Análisis por medio fluido de tioglicolato

El análisis mostró la presencia de hiposporas de *P. marinus* de 10 a 100 µm de tamaño y color azul-negro, durante época de lluvias, nortes y secas, con grados de infección de 2, 3 y 5, respectivamente, en todos los ostiones del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal (Figura 3). La prevalencia en nortes fue $70 \pm 20.9\%$ de la siguiente manera: B1 y B3 mostraron 50% de

prevalencia, B2 y B4 presentaron 60 y 70%, mientras que B5 y B6 presentaron 90 y 100%, respectivamente. Por su parte, la prevalencia en época de secas fue $88.3 \pm 16.0\%$ de la siguiente manera: el B2 presentó 60%, seguido por B1 y B4 con 90 y 80%, y el B3, B4 y B5 con 100% de prevalencia, respectivamente. Mientras que el grado de infección registrado en la época de nortes fue entre 2 y 3 (ligero a moderado), en época de secas fue entre 3, 4 y 5 (moderado a severo).

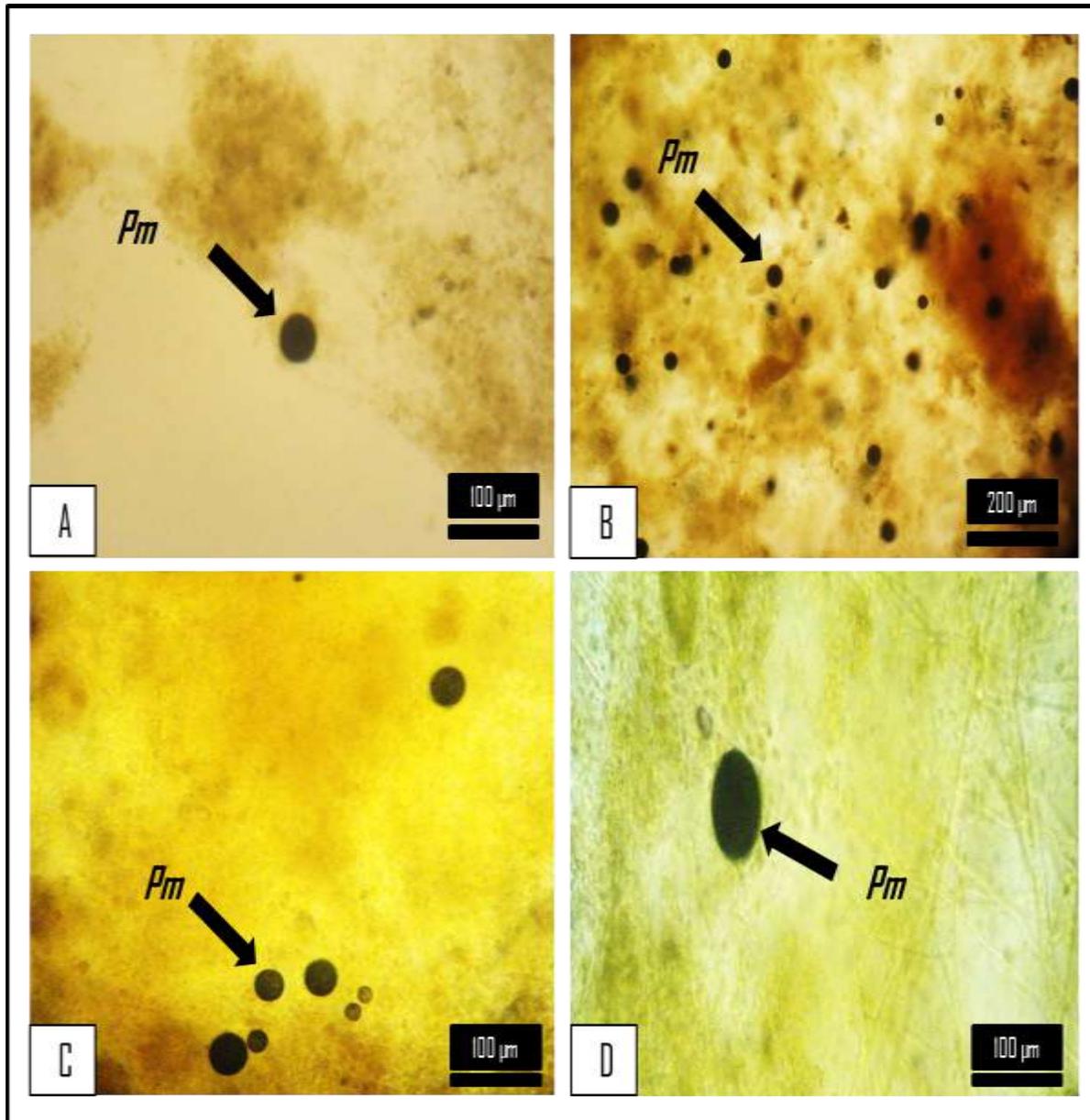


Figura 3. Células de *Perkinsus marinus* (*Pm*) obtenidas después de 6 días de incubación en tejidos de recto, manto y branquias. (A) Hipnosporas a 40X, (B) Hipnosporas a 10 X, (C) Hipnosporas a 40 X, y (D) Hipnosporas a 100 X.

La mayor intensidad de la infección se presentó a una salinidad superior a 35 ppm con correlación significativa ($r = 0.8584$, $p < 0.005$). Los parámetros físico-químicos del agua durante época de lluvias fueron: temperatura de 26.26 ± 0.24 °C, salinidad de 22.34 ± 1.12 ppm y clorofila *a* de 0.25 ± 0.06 mg L⁻¹. Durante esta época la prevalencia fue 73.3 ± 15 %. En época de nortes la temperatura del agua fue 27.09 ± 0.37 °C, la salinidad 25.34 ± 1.44 ppm y la clorofila *a*

0.35 ± 0.12 mg L⁻¹, con prevalencia de 90 ± 10 %. En época de secas la temperatura fue 29.36 ± 2.29 °C, la salinidad 35.02 ± 7.70 ppm y la clorofila *a* 0.32 ± 0.12 mg L⁻¹; durante esta época la prevalencia fue 100%. Las variables que demuestran mayor influencia en la prevalencia del parásito son la temperatura y la salinidad, siendo las épocas de nortes y secas las de mayor presencia del parásito (Figura 4).

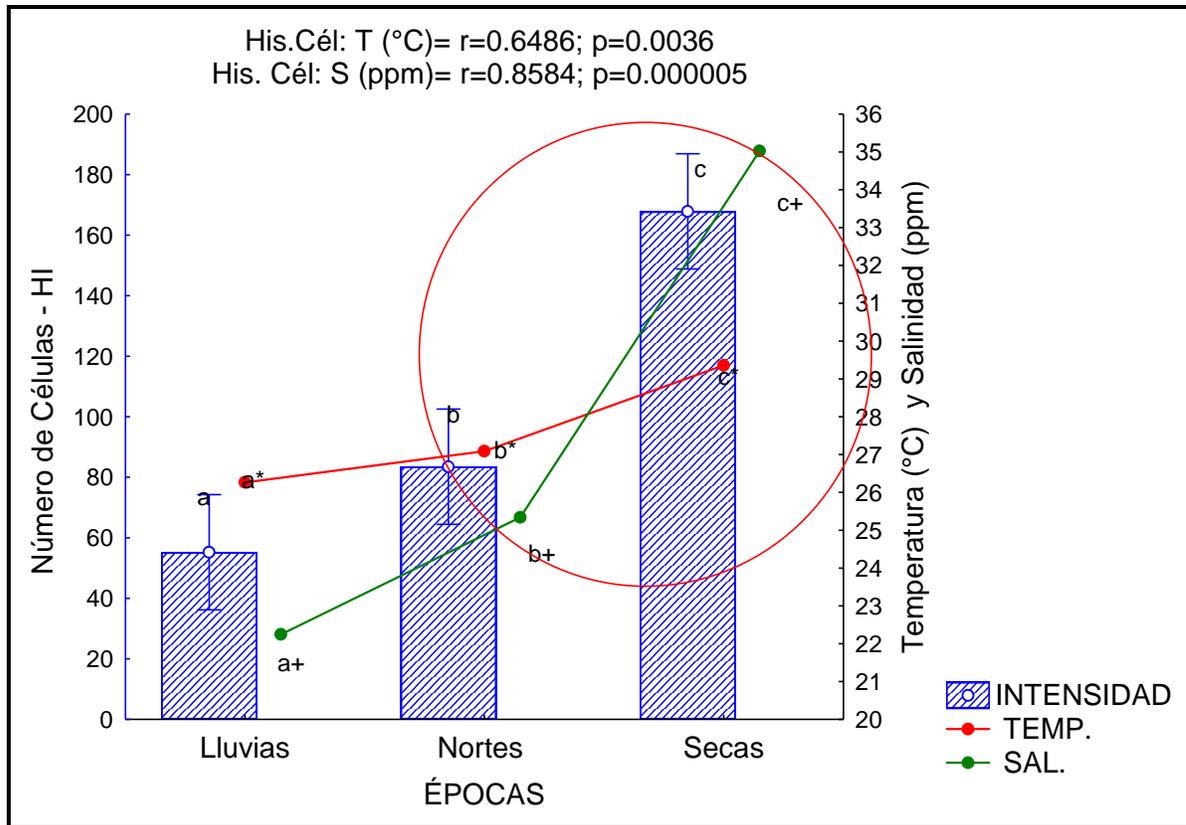


Figura 4. Comportamiento de la intensidad de infección de *Perkinsus marinus* con relación a temperatura (°C) y salinidad (ppm) del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal en Tabasco, México, durante tres épocas del año.

Análisis histológico

La histología permitió confirmar la presencia de *P. marinus*, el cual ocasionó alteraciones en branquias y glándula digestiva de los ostiones, provocando una fuerte infiltración masiva de hemocitos en tejido epitelial y conectivo. La intensidad de la infección fue severa, debido a que el 100% de organismos presentaron daños en sitios de manto, glándula digestiva y branquias. El parásito se encontró en dos estadios diferentes: el primero como trofozoítos en desarrollo y el segundo como tomonte; este último por medio del rompimiento de la pared celular libera entre 8 y 16 nuevos individuos, lo que permite completar su ciclo de vida dentro del organismo (Figura 5). *Perkinsus marinus* se observó durante las épocas de lluvias, nortes y secas, con prevalencia general de $87.78 \pm 15.1\%$. Asimismo, la prevalencia aumentó en el transcurso de los meses con un valor mínimo de $73.3 \pm 15.0\%$ en época de lluvias y valores máximos para nortes y secas de $90 \pm 10\%$ y 100% ,

respectivamente. En el caso de la prevalencia por banco, en época de lluvias la prevalencia máxima fue 90% y se observó en B1, mientras que la mínima fue 50% y se presentó en B3, seguido por B6 donde fue 60%; por su parte, B2, B4 y B5 mantuvieron una prevalencia cercana a 80%. En época de nortes la máxima prevalencia se registró en B3 y B6 y fue 100%, seguida por 90% en B2, B4 y B5, mientras que la prevalencia mínima fue 70% y se presentó en B1. Durante la época de secas todos los bancos de ostiones mostraron prevalencia de 100%.

Análisis por PCR

El ADN extraído por cada banco de ostión y época de muestreo resultó positivo a la presencia de *P. marinus*. Durante época de lluvias 50% de los bancos resultaron positivos (B1, B3 y B6), en nortes 80% de los bancos fueron positivos (B1, B2, B3, B4), mientras que en secas el 100% fueron positivos (Figura 6).

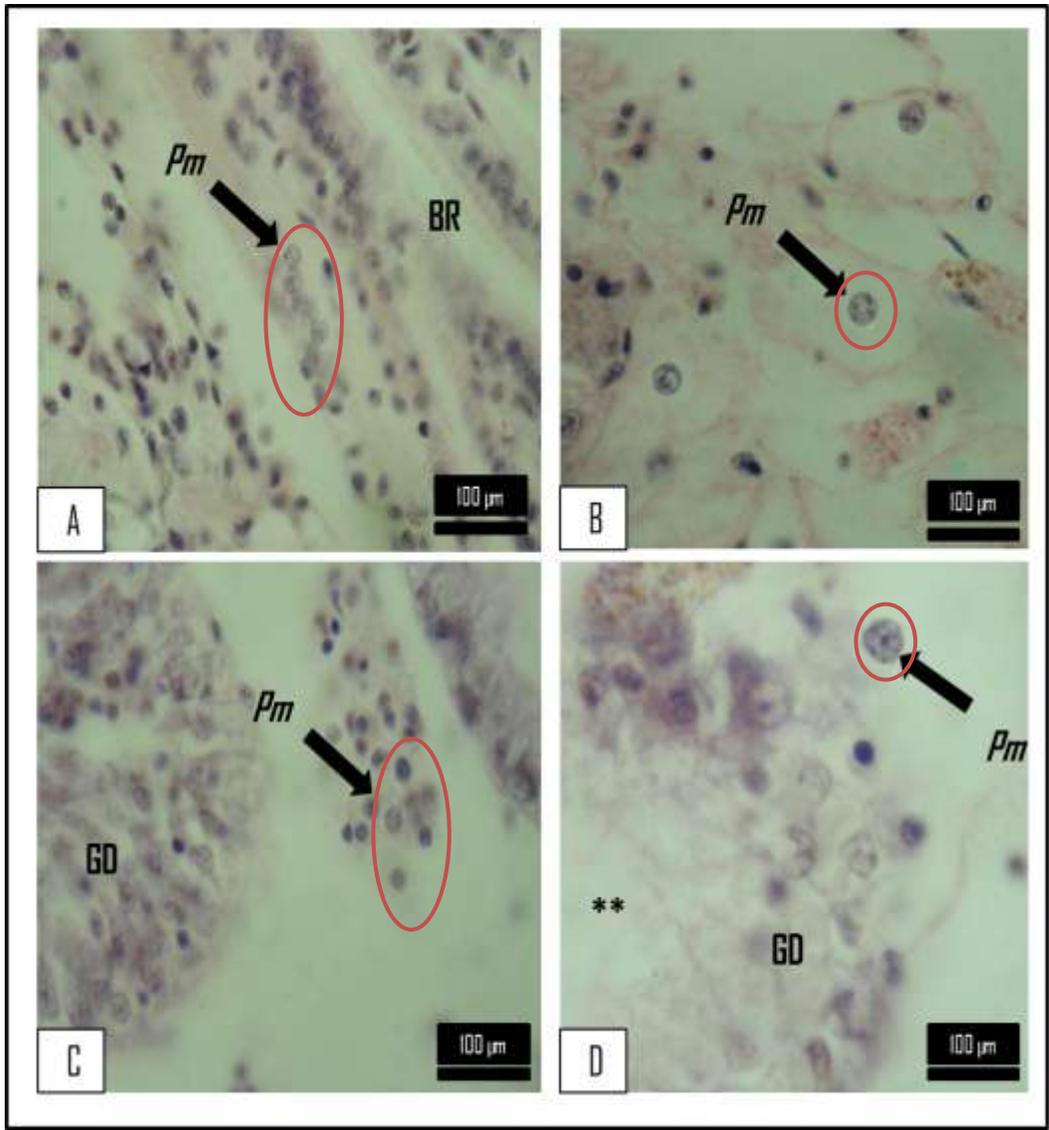


Figura 5. Presencia de *Perkinsus marinus* (*Pm*): A y B = trofozoítos en branquias observadas a 40X; C y D = tomonte en glándula digestiva observada a 100X. Escala de barra de 100 μm. (** lumen de túbulos digestivos).



Figura 6. Identificación de *Perkinsus marinus* en la electroforesis de los productos de PCR en gel de agarosa, de los seis bancos ostrícolas del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal de Tabasco, México, durante las épocas de lluvias, nortes y secas.

PM= Peso Molecular a 1000 pb; C+= control positivo (*P. marinus*); C-= control negativo (agua destilada); B1-B6= bancos 1 a 6.

DISCUSIÓN

La especie *P. marinus* es el agente causal de la enfermedad del dermo o perkinsiosis, la cual causa daños principalmente en branquias, intestino, glándula digestiva y hemolinfa de ostiones. Esta enfermedad es letal para el ostión americano *C. virginica* (Burreson y Ragone Calvo, 1996; Villalba et al., 2004). En este estudio, el análisis macroscópico de los ostiones reveló una serie de signos que destacan la presencia de *P. marinus*, los cuales concuerdan con lo descrito por McLaughlin y Faisal, (1999). *Perkinsus marinus* se observó en el MFT, con grados de infección de 2, 3, 4 y 5 de la escala de Mackin (1962). Estos resultados son contrarios a lo indicado por Rodríguez y Navas (1995) y Nickens et al. (2002), quienes registraron grado 5 de infección (escala de Mackin) en tejidos de branquias y hemolinfa, y a lo reportado por Cáceres-Martínez et al. (2008), quienes obtuvieron grados de infección bajos de entre 1.3 y 1.5. Sin embargo, estas diferencias son probablemente debidas a los días de incubación en MTF, como lo mencionan Moss et al. (2008), que utilizaron un tiempo de incubación de entre 5 y 7 días y obtuvieron prevalencia de infección de 17% en organismos recolectados en Beihai, China. Otra de las variantes con relación a los grados de infección son las diferentes localidades y especies de moluscos, tales como *Ruditapes* sp. y *Crassostrea corteziensis* (Rodríguez y Navas 1995; Cáceres-Martínez et al. 2008). Sin embargo, Blackbourn et al. (1998) mencionan que la técnica de MFT no funciona para la especie *P. quagwadi*, responsable de mortalidad elevada de la almeja *Patinopecten yessoensis* en Canadá, ya que el tamaño de las esporas no se amplifica en el MFT.

En el presente estudio, el 100% de prevalencia registrada en época de secas coincidió con lo reportado previamente por diferentes autores (Chu y Greene, 1989; Chu y La Peyre, 1991; Burreson et al., 1994; Brown et al., 2005), quienes mencionan que la proliferación del parásito es elevada cuando la temperatura y la salinidad del agua son altas. Durante el estudio, los mínimos niveles de clorofila *a* registrados en época de lluvias fueron probablemente debidos al arrastre de agua proveniente de los escurrimientos de los ríos San Felipe y Santa Ana y de las lluvias (Gutiérrez-Estrada y Galaviz-Solís, 1983). Durante la época de nortes, el incremento de la presencia del parásito en el sistema lagunar se debió probablemente a la influencia de oleajes fuertes, al permitir la entrada de agua dulce y de nutrientes al sistema acuático, mientras que en época de secas el parásito aumentó probablemente debido a la variabilidad climática, según lo reportado por Harvell et al. (1999). Esto indica que en el Golfo de México el fenómeno de la Niña genera mayor temperatura, favoreciendo la presencia de *P. marinus*. Sin embargo, en los ecosistemas lagunares también influyen los

factores antropogénicos (Burreson et al., 1994; Bello et al., 1999) que se correlacionan con las fuentes puntuales de contaminación registradas alrededor del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal, entre los que destacan la actividad petrolera, los asentamientos humanos, la actividad agrícola y los cambios fisiográficos de las lagunas debido al azolvamiento de las barras. Los resultados de la concentración de clorofila *a* en la laguna sugieren que no solo puede ser afectada por la estacionalidad fitoplanctónica, sino también por los aspectos meteorológicos, como lo mencionan Gullian-Klanian et al. (2008) y Signoret et al. (2008). Aunado a esto, los valores de clorofila *a* obtenidos en el área de estudio indican que ahí el agua es muy clara, y por tanto el crecimiento de microalgas es muy poco, lo cual concuerda con lo descrito por Caso et al. (2004). Por otro lado, a pesar de que la prevalencia fue alta en las tres épocas del año estudiadas, la disponibilidad del alimento para los ostiones se incrementó con forme aumentó la prevalencia del parásito. Esta mayor disponibilidad de alimento podría favorecer a los ostiones y reducir de manera importante la mortalidad en la localidad, debido a que los organismos presentarían mejores condiciones a partir de la disponibilidad de alimento y por lo tanto un mejor estado fisiológico y nutritivo, que podría repercutir en el fortalecimiento de su sistema inmune con el consecuente control del parásito. Esto concuerda con lo descrito por Lucas y Beninger (1985), Crosby y Roberts (1990) y Oliver et al. (1998), quienes mencionan que a partir de las fluctuaciones bióticas y abióticas, el parásito es capaz de provocar problemas metabólicos y reproductivos a partir del desequilibrio entre el patógeno, huésped y medio ambiente.

Los resultados de histopatología mostraron una serie de daños en tejidos de glándula digestiva, branquias y palpos labiales de los ostiones, característicos de la presencia de *P. marinus*. También se destacó la presencia de trofozoítos inmaduros en el epitelio intestinal y el tejido conectivo, tal como lo señalan Burreson et al. (1994) y Oliver et al. (1998). El análisis de PCR permitió amplificar a 307 pb en la región NTS entre 5s y SSU rRNA la cual es descrita especialmente para *P. marinus*, como lo indican Robledo et al. (1999) y Cáceres-Martínez et al. (2008).

El presente estudio abarcó los principales bancos de extracción a lo largo del sistema lagunar Carmen-Machona y Pajonal; sin embargo, la presencia del parásito se reveló durante las tres épocas del año, con prevalencias máximas registradas en épocas de nortes y secas, lo cual concuerda con Burreson et al. (1994), Bobo et al. (1997), Dittman et al. (2001) y Gullian-Klanian et al. (2008), quienes indican que rangos altos de temperatura y salinidad provocan periodos más largos de proliferación del parásito, lo que resulta en un índice de mortalidad más alto del ostión *C.*

virginica. También, las diferentes técnicas mostraron resultados semejantes sobre la presencia del parásito durante las tres épocas del año; sin embargo, el comportamiento fue ascendente a lo largo del estudio, lo cual se asocia a la variación de las condiciones ambientales.

CONCLUSIÓN

El presente estudio abarcó los principales bancos de extracción ostrícola a lo largo del sistema lagunar Carmen-Machona-Pajonal en Tabasco, México, en donde se detectó la presencia de *P. marinus* durante las épocas de lluvias, nortes y secas. Los resultados obtenidos proporcionarán información al sector pesquero y acuícola sobre la conducta del parásito en las diversas zonas de extracción presentes en el sistema lagunar estudiado. Por otro lado, es necesario realizar monitoreos constantes en las lagunas del Golfo de México, así como establecer medidas de bioseguridad para el desarrollo ostrícola.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto “Estudio para el aprovechamiento sustentable de los recursos pesqueros del sistema lagunar Carmen-Pajonal-Machona, Tabasco, Méx., basado en el manejo ecosistémico” con clave INAPESCA–CONACYT número #00000000126964. A la técnica MVZ. Magnolia Grisel Garduño por las facilidades otorgadas en el área de histología, y al M.C. Christian Reyes Velásquez por su apoyo en el área de biología molecular; ambos forman parte del Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos (LIRA) del Instituto Tecnológico de Boca del Río, Veracruz.

REFERENCIAS

- Aguirre-Macedo, M.L., Simá-Álvarez, R.A., Román-Magaña M.K., Güemez-Ricalde, J.I. 2004. Diagnóstico parasitológico en (*Crassostrea virginica*) del Golfo de México. Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico. 28:5-6.
- Aguirre-Macedo, M.L., Simá-Álvarez, R.A., Román-Magaña M.K., Güemez-Ricalde., J.L. 2007. Parasite survey of the Eastern Oyster *Crassostrea virginica* in Coastal Lagoons of the Southern Gulf of Mexico. Journal of Aquatic Animal Health. 19:270-279.
- AEAP. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. 2010. <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario2010>. (Consultada el 28 de junio de 2012).
- Blackbourn, J., Bower, S.M., Meyer, G.R. 1998. *Perkinsus gudwadi* sp. Nov. (Incertae sedis), a pathogenic protozoan parasite of Japanese scallops, *Patinopecten yessoensis*, cultures in British Columbia, Canada. Canadian Journal of Zoology. 76:942-953.
- Bello, P.J., Gómez, M.L., Magaña, R.V., Graizbord, B., Rodríguez, P.H. 2009. Sitio piloto Sistema Lagunar Carmen-Pajonal-Machona. Adaptación a los impactos del cambio climático en los humedales costeros del Golfo de México. Vol. II. Buenfil, F. J. (edit.). México. pp. 480-502.
- Bobo, M.Y, Richardson, D.L., Coen, L.D., Burrell, V.G. 1997. A report in the protozoan pathogen *Perkinsus marinus* (DERMO) and *Haplosporidium nelsoni* (MSX) in South Carolina shellfish populations, with an overview of these shellfish pathogens. SCDNR-MRD-MRRI. Technical Report, Charleston, S.C. USA.
- Botello, A.V., Barrera, G., Díaz, G., Ponce, G., Villanueva, S., Wong, I. 2002. Contaminación marina y costera. La pesca en Veracruz y sus perspectivas de desarrollo. Instituto Nacional de la Pesca. Universidad Veracruzana, Primera edición. Xalapa, Veracruz, México. pp. 97-111.
- Brown, B.L., Butt, A.J., Shelton, S.W, Meritt, D., Kennedy, P. 2005. Resistance of Dermo in eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin), of North Carolina but not Chesapeake Bay Heritage. Aquaculture Research. 36:1391-1399.
- Burreson, E.M., Ragone Calvo, L.M. 1996. Epizootiology of *Perkinsus marinus* disease of oysters in Chesapeake Bay, with emphasis on data since 1985. Journal of Shellfish Research. 15:17-34.
- Burreson, E.R., Simá-Álvarez, R., Vidal-Martínez, V., Aguirre-Macedo, M.L. 1994. *Perkinsus marinus* (Apicomplexa) as a potential source of oyster *Crassostrea virginica* mortality in coastal lagoons of Tabasco, Mexico. Diseases of Aquatic Organisms. 20:77-82.
- Cáceres-Martínez, J., Vázquez-Yeomans, R., Padilla-Lardizábal, G., Rio-Portilla, M.A. 2008. *Perkinsus marinus* in pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* from Nayarit, Pacific coast of Mexico. Journal of Invertebrate Pathology. 99:66-73.

- Caso, M., Pisanty, I., Ezcurra, E. 2004. Diagnóstico ambiental del Golfo de México. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Harte Research Institute for the Gulf of México Studies. 625:125-126.
- Chu, F.E., Greene, K.H. 1989. Effect of temperature and salinity on *in vitro* culture of the oyster pathogen, *Perkinsus marinus* (Apicomplexa: Perkinsea). Journal of Invertebrate Pathology. 53:260-268.
- Chu, F.S., La Peyre, J.F. 1991. Effect of salinity in *Perkinsus marinus* susceptibility and defense related activities in eastern oysters *Crassostrea virginica*. Journal of Shellfish Research. 10:294.
- Chu, F.L.E. 1996. Laboratory investigations of susceptibility, infectivity, and transmission of *Perkinsus marinus* in oysters. Journal of Shellfish Research. 15:57-66.
- Contreras, F., Zabalegui, L.M. 1988. Aprovechamiento del Litoral Mexicano. Centro de Eco desarrollo, Secretaría de Pesca, México.
- Crosby, M.P., 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. 9:149-155.
- DOF. Diario Oficial de la Federación. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Procedimiento para la toma y manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaria de salud. Aclaración. Diario Oficial de la Federación 26 de mayo de 1994.
- Dittman, D.E, Ford, S.E, Padilla, D.K. 2001. Effects of *Perkinsus marinus* on reproduction and condition of the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica*, depending on timing. Journal of Shellfish Research. 20:102-1034.
- Ford, S.E., Tripp, M.R. 1996. Diseases and defense mechanisms. En: The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. Newell, R.I.E., Kennedy, V.S. y Eble, A.F. (eds.). Maryland Sea Grant College. College Park, Maryland.USA. 734:581-660.
- Gullian-Klanian, M., Herrera-Silveira, J.A., Rodríguez-Canul, R., 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. 79:237-247.
- Gutiérrez-Estrada, M., Galaviz -Solís, A. 1983. Morfología y sedimentos recientes de las lagunas del Carmen, Pajonal y la Machona, Tabasco, México. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Contribución 328 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. <http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1983-1/articulo162.html> (Consultada el 28 de junio de 2012).
- Harvell, C.D., Kim, K., Burkholder, J.M., Colwell, R.R., Epstein, P.R., Grimes, D.J., Hofmann, E.E., Lipp, E.K., Osterhaus, A.D., Overstreet, R.M., Porter, J.W., Smith, G.W., Vasta, G.R. 1999. Emerging marine diseases-climate links and anthropogenic factors. Science. 285:1505-1510.
- Karolus, J., Sunila, I., Spacer, S., Volk, J. 2000. Prevalence of *Perkinsus marinus* (Dermo) in *Crassostrea virginica* along the Connecticut shoreline. Aquaculture. 183:215-221.
- Lucas, A., Beninger, P.G. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. Aquaculture. 44:187-200.
- Mackin, J.G. 1962. Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana. Institute for Marine Science University of Texas. USA. 7:132-229.
- McLaughlin, S.M., Faisal, M. 1999. A comparison of diagnostic assays for detection of *Perkinsus spp* in the softshell clam *Mya arenaria*. Aquaculture. 172:197-204.
- Marín-Mezquita, L., Baeza, L., Zapata-Pérez, O., Gold-Bouchot, G. 1997. Trace metals in the American oyster, *Crassostrea virginica*, and sediments from the coastal lagoons Mecoacan, Carmen and Machona, Tabasco, Mexico. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Unidad Mérida. Chemosphere. 34: 2437-2450.
- Marsh, A.G., Gauthier, J.D., Vasta, G.R. 1995. A semiquantitative PCR assay for assessing *Perkinsus marinus* infections in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. Journal of Parasitology. 81:577-583.

- Moss, J.A., Xiao, J., Duncan, C.F., Reece, K.S. 2008. Description of *Perkinsus beihaiensis* n. sp., a new *Perkinsus* sp. parasite in oysters of Southern China. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 55:117-130.
- Nickens, A.D., La Peyre, J.R., Wagner, E.S., Tiersch, T.R. 2002. An improved procedure to count *Perkinsus marinus* in eastern oyster hemolymph. *Journal of Shellfish*. 21:725-32.
- O'Farrell, C., La Peyre, J.F., Paynter, K.T., Burrenson, E.M. 2000. Osmotic tolerance and volume regulation in *in vitro* cultures of the oyster pathogen *Perkinsus marinus*. *Journal of Shellfish Research*. 19:139-145.
- Oliver, L.M., Fisher, W.S., Ford, S.E., Ragone Calvo, L.M., Burrenson, E.M., Sutton, E.B., Gandy, J. 1998. *Perkinsus marinus* tissue distribution and seasonal variation in oysters *Crassostrea virginica* from Florida, Virginia and New York. *Disease of Aquatic Organisms*. 34:51-61.
- OIE. Office International the Epizooties. 2006. Diagnostic manual for aquatic animal diseases. Office International the Epizooties. 2.2.6: 354-367.
- Pronalsa. Programa Nacional de Sanidad Acuicola. 2002. Año 5, Vol. 2, No. 18, Junio 2002. Boletín 18. <http://www.xoc.uam.mx/pronalsa/boletines.htm> (Consultada el 4 de agosto de 2011).
- Pronalsa. Programa Nacional de Sanidad Acuicola. 2007. Año. 10 Vol. IV, No. 40, Diciembre 2007. Boletín 40. <http://www.xoc.uam.mx/pronalsa/boletines.htm> (Consultada el 4 de agosto de 2011).
- Ray, S.M. 1966. A review of the culture method for detecting *Dermocystidium marinum*, with suggested modifications and precautions. *Proceedings of the National Shellfisheries Association*. 54:55-69.
- Robledo, J.A., Gauthier, J.D., Coss, C.A., Wright, A.C., Vasta, G.R. 1998. Species specificity and sensitivity of a PCR- based assay for *Perkinsus marinus* in the eastern Oyster, *Crassostrea virginica*: a comparison with the fluid thioglycollate assay. *Journal of Parasitology*. 84:1237-1244.
- Robledo, J.A., Marsh, A.G., Wright, A.C., Vasta, G.R. 1999. Nucleotide sequence variability in the non-transcribed spacer of the r RNA locus in the oyster parasite *Perkinsus marinus*. *Journal of Parasitology*. 85:650-656.
- Rodriguez, F., Navas, J.L. 1995. A comparison of gill and hemolymph assays for the thioglycolate diagnosis of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in Clams, *Ruditapes decussatus*, (L.) and *Ruditapes Philppinarum* (Adams et reeve.). *Aquaculture*. 132:145-152.
- Rodríguez, I.P., Barrera, H.A. 2004. La reacción de cadena de polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL*. Julio- Septiembre, VIII (003):323-335.
- Signoret, M., Bulit, C., Pérez, R. 2008. Patrones de distribución de clorofila a y productividad primaria en aguas del Golfo de México y del Mar Caribe. *Hidrobiología*. 8:81-88.
- Strickland, J.D., Parsons, T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bull Fisheries Research Board of Canada, Bulletin*. 167:107-112.
- Taro, Y. 1999. *Estadística*. Editorial Harla. Tercera edición. México.
- Thrusfield, M. 1995. *Veterinary Epidemiology*. Second edition. Blackwell Scienice, Oxford.
- Villalba, A., Reece, K.S., Camino-Ordas, M., Casa, S.M., Figueras, A. 2004. Perkinsiosis in molluscs: a Review. *Aquatic Living Resources*. 17:411-432.

Submitted March 29, 2012 – Accepted June 15, 2012

Revised received July 30, 2012