

Detección de *Perkinsus marinus* en una población silvestre del mejillón “choro” *Modiolus capax* del suroeste del Golfo de California

Detection of *Perkinsus marinus* in a wild population of the horse mussel *Modiolus capax* from the southwestern Gulf of California

Andrés Martín Góngora-Gómez¹*, Melina López-Meyer¹, Lizeth Carolina Villanueva-Fonseca², María Fernanda Navarro-Chávez¹,
María José Acosta-Campos¹, Juan Antonio Hernández-Sepúlveda¹ & Manuel García-Ulloa^{1*}

Recibido: 16 de octubre de 2021.

Aceptado: 20 de noviembre de 2021.

Publicado: diciembre de 2021.

RESUMEN

Antecedentes. Después de haberse reportado su transfaunación del océano Atlántico, el protozoo *Perkinsus marinus* ha ampliado su listado de hospederos en varias especies de moluscos del océano Pacífico, tanto en cultivo como de poblaciones silvestres. **Objetivos.** Se evaluó la presencia de este parásito en el mejillón “choro”, *Modiolus capax*, en el suroeste del Golfo de California. **Métodos.** Se colectaron 60 mejillones por estación anual durante un año (verano, otoño, invierno 2019-primavera 2020, n = 240), en el puerto minero de Santa Rosalía (SR), Baja California Sur, México. Se utilizó la tinción con tioglicolato para detectar presuntas hipnosporas y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para su confirmación. Se obtuvieron la prevalencia, carga parasitaria e intensidad de infección en cada muestreo. **Resultados.** Se detectaron presuntas hipnosporas del parásito con la tinción de tioglicolato, en casi 20% de las muestras analizadas, de las que sólo el 5% fueron positivas para su confirmación con PCR. Ni la prevalencia (6.66-33.33%) ni la carga parasitaria (< 2.75 hipnosporas/g) mostraron una tendencia a aumentar con el tiempo; la intensidad de infección fue de negativa a ligera. La salinidad mostró correlación con la carga parasitaria ($r = 0.99$, $p = 0.002$). **Conclusiones.** Los resultados sugieren que *M. capax* en SR presentó baja susceptibilidad al parásito, por lo que su salud no se encuentra comprometida al hospedar a *P. marinus*. Aunque es el primer reporte del protozoo en este mejillón, es recomendable el monitoreo continuo para conocer, no solo el estado sanitario del bivalvo en la región, sino también, de las otras especies de moluscos que ahí habitan.

Palabras clave: Baja California Sur, bivalvos, condición sanitaria, diagnóstico de la infección, parasitología

ABSTRACT

Background. After its transfaunation from the Atlantic Ocean has been reported, the protozoan *Perkinsus marinus* has expanded its list of hosts in several species of mollusks in the Pacific Ocean, both in cultivation and in wild populations. **Goals.** The presence of this parasite was evaluated in the horse mussel *Modiolus capax*, in the southwestern Gulf of California. **Methods.** 60 mussels were collected per annual season for one year (summer, autumn, winter 2019-spring 2020, N = 240), in the mining port of Santa Rosalía (SR), Baja California Sur, Mexico. Thioglycollate staining was used to detect presumptive hypnospores and the polymerase chain reaction (PCR) technique for its confirmation. The prevalence, parasite load and intensity of infection were obtained in each sampling. **Results.** Presumptive hypnospores of the parasite were detected with thioglycollate staining in almost 20% of the samples analyzed, of which only 5% were positive for confirmation with PCR. Neither the prevalence (6.66-33.33%) nor the parasite load (< 2.75 hypnospores/g) showed a tendency to increase with time; the intensity of infection ranged from negative to light. Salinity showed correlation with parasite load ($r = 0.99$, $p = 0.002$). **Conclusions.** The results suggest that *M. capax* in SR presented low susceptibility to the parasite, so its health is not compromised when hosting *P. marinus*. Although it is the first report of the protozoan in this mussel, continuous monitoring is recommended to know not only the health status of the bivalve in the region, but also of the other species of mollusks that inhabit there.

Keywords: Baja California Sur, bivalves, diagnosis of infection, health condition, parasitology

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes No. 250, col. San Joaquín, Guasave, Sinaloa, 81101. México.

Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Guasave. Av. Universidad s/n Fracc. Villa Universidad, Guasave, Sinaloa, 81048. México

*Corresponding author:

Manuel García Ulloa: e-mail: turbotuag@hotmail.com

To quote as:

Góngora-Gómez, A.M., M. López-Meyer, L.C. Villanueva-Fonseca, M.F. Navarro-Chávez, M.J. Acosta-Campos, J.A. Hernández-Sepúlveda & M. García-Ulloa 2021. Detección de *Perkinsus marinus* en una población silvestre del mejillón “choro” *Modiolus capax* del suroeste del Golfo de California. *Hidrobiológica* 31 (3): 253-261.

DOI:10.24275/uam/izt/dchb/hidro/2021v31n3/Gongora

INTRODUCCIÓN

Entre los parásitos más importantes que se han reportado en moluscos bivalvos del Golfo de California destacan el virus OshV-1 y los protozoarios *Marteilia refringens* (Grizel, Comps, Bonami, Cousserans, Duthoit & Le Pennec, 1974) y *Perkinsus marinus* [(Mackin, Owen & Collier) Levine, 1978], los cuales, han sido encontrados en las almejas *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) (Renault *et al.*, 2001) y *Scapharca broughtonii* (Adams & Reeve, 1850) (Xin *et al.*, 2018), y en los ostiones *Magallana* (*Crassostrea*) *gigas* (Thunberg, 1973) y *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008; Grijalva-Chon *et al.*, 2013, 2015; Enríquez-Espinoza *et al.*, 2015). Específicamente para *P. marinus*, desde que se comprobó su transfaunación de las costas del Océano Atlántico (Bushek & Allen, 1996; Reece *et al.*, 2008; Cáceres-Martínez *et al.*, 2016) y, posteriormente, se confirmó su presencia en las costas del Pacífico Mexicano (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008; Ek-Huchim *et al.*, 2017), este protozoario ha sido detectado en ostiones cultivados, fuera (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008) y dentro (Cáceres-Martínez *et al.*, 2018) del Golfo de California, sin afectar su producción (Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla, 2013; Martínez-García *et al.*, 2017; Villanueva-Fonseca *et al.*, 2020); aunque también, se ha reportado asociado a mortalidades de ostreidos (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010). Debido a la fácil dispersión de este parásito y el riesgo que implica su potencial de infección en otras especies de moluscos (Villalba *et al.*, 2004), el Laboratorio de Malacología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIDIIR-Unidad Sinaloa) del Instituto Politécnico Nacional (IPN), desde hace una década, realiza un registro de la ocurrencia de *P. marinus* y organismos parecidos a *Perkinsus* spp., en diferentes especies de bivalvos de poblaciones silvestres y cultivadas que habitan en algunas lagunas de la costa sureste del Golfo de California.

Mediante la tinción con tioglicolato, se han detectado presuntas hipnosporas de *Perkinsus* sp. en un banco natural del callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Góngora-Gómez *et al.*, 2016) y en dos poblaciones de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) siendo una silvestre (Góngora-Gómez *et al.*, 2020) y otra protegida dentro de un refugio pesquero (Góngora-Gómez *et al.*, 2019a), ambos bivalvos habitando en la misma laguna. En otro complejo lagunar costero, a 250 km al norte de los reportes anteriormente mencionados, Góngora-Gómez *et al.* (2019b) confirmaron la presencia de hipnosporas de *Perkinsus* sp. en especímenes silvestres de *M. squalida*, mientras que Navarro-Chávez (2021) detectó tales corpúsculos oscuros y esféricos característicos para las hipnosporas de *Perkinsus* sp. (OIE, 2019) en la almeja arenosa *Chionista fluctifraga* (Sowerby, 1853) cultivada en una zona intermareal. En algunas granjas del ostión *C. gigas* de la zona del sureste del Golfo de California, Góngora-Gómez *et al.* (2019c) evidenciaron hipnosporas de este protozoario sin poner en riesgo la salud de los organismos, coincidiendo con las observaciones de Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla (2013) para la misma especie. Solo Villanueva-Fonseca *et al.* (2020) confirmaron el registro de *P. marinus* mediante análisis molecular (PCR), en el ostión de placer *C. corteziensis* de granjas experimentales. Todos los estudios anteriores han sido reportados en poblaciones silvestres o de cultivo de la costa noreste del Golfo de California. La detección de *Perkinsus* spp. en moluscos bivalvos del sureste de la península de California es escasa. Cáceres-Martínez *et al.* (2018) documentaron el posible efecto de *P. marinus* en la

mortalidad de *C. gigas* cultivado en Bahía de La Paz, Baja California Sur, sin obtener evidencias de que este protozoario fuera el causante de dicho evento.

El mejillón “choro”, *Modiolus capax* (Conrad, 1837) es un bivalvo que habita en el Océano Pacífico, desde la costa de California, EU, hasta Perú e Islas Galápagos (Coan & Valentich-Scott, 2012). En México, existen bancos importantes de este mejillón a lo largo de la costa suroccidental de la península de California (Olguín-Quiñones, 1976; Muñoz-Barbosa & Huerta-Díaz, 2013; García-Corona *et al.*, 2018), sin embargo, no es explotado comercialmente y su consumo es limitado (García-Corona *et al.*, 2018). Son pocos los estudios disponibles de *M. capax* en la región. Por ejemplo, Garza-Aguirre & Bückle-Ramírez (1989) y García-Corona *et al.* (2018) analizaron su biología reproductiva, mientras que García-Domínguez *et al.* (2018) describieron su ciclo reproductivo. Con relación a su uso como bioindicador, Muñoz-Barbosa & Huerta-Díaz (2013) reportaron el estado ambiental de la costa este del Golfo de California en función de metales pesados derivados de la minería, depositados en sedimentos y acumulados en *M. capax*.

Los estudios acerca de la presencia de *Perkinsus* spp. en especies de mejillón son limitados. Por ejemplo, Itoh *et al.* (2019) por primera vez, detectaron a *Perkinsus beihaiensis* (Moss, Xiao, Dungan & Reece, 2008) en el mejillón *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819, en Bahía Tokio, Japón, usando la técnica histológica, observando hipnosporas mediante la tinción de tioglicolato y confirmando la presencia de la especie con análisis de PCR. Con el mismo procedimiento, además de la secuenciación genética, Dantas-Neto *et al.* (2020) detectaron a *P. beihaiensis* en tres moluscos de importancia comercial en el estero Jaguaribe, Brasil, incluyendo al mejillón *Mytella falcata* (d'Orbigny, 1846). Hasta ahora, no existen investigaciones del protozoario en el mejillón *M. capax*. El objetivo de este estudio es reportar por primera vez, la presencia de *P. marinus* en una población de *M. capax* de la costa suroeste del Golfo de California, en un periodo anual.

MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio de muestreo (El puerto minero de Santa Rosalía, SR, 27°20'20" N; 112°16'01" W) se localiza en la línea costera de Baja California Sur, dentro del Golfo de California (Fig. 1).

El primer mes de cada estación del año (verano, otoño e invierno 2019-primavera 2020), se colectaron 60 mejillones (n = 240) mediante buceo asistido y/o buceo autónomo. Los mejillones fueron colectados y transportados al laboratorio en una hielera con agua de mar para ser separados individualmente y eliminar los organismos epibiontes de sus conchas (NOM, 1993). Se obtuvieron la altura de la concha (96.76 ± 24.90 mm) y el peso corporal (92.66 ± 35.37 g) de cada espécimen. En cada muestreo se registraron los siguientes parámetros ambientales del agua: temperatura y oxígeno disuelto (YSI 55/12FT Oxímetro, Ohio, USA), salinidad (ATAGO, S/Mill refractómetro), pH (Hanna, HI 8314 pH-metro, USA), profundidad y transparencia (disco Secchi).

En el laboratorio, los mejillones fueron sacrificados en hielo, abiertos y despegados de las conchas de acuerdo al Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos propuesto por Cáceres-Martínez & Vázquez-Yeomans (2014). De cada espécimen, se separaron los tejidos y se formaron dos grupos conteniendo cada uno:

glándula digestiva, branquias, músculo aductor, gónada y manto. Para la detección de presuntas hipnosporas de *P. marinus*, un conjunto de tejidos (A) de cada mejillón fue incubado en el medio fluido de tioglicolato de Ray (RFTM, Ray 1966), de acuerdo con los estándares de la OIE (2019); el otro grupo de tejidos (B) se almacenó a -70°C para el análisis confirmatorio con PCR.

Se añadieron 25 mL de RFTM en tubos de 50 mL estériles junto con las muestras de tejido (A) de cada mejillón para ser incubados en oscuridad a $22-24^{\circ}\text{C}$ durante 4-7 días. Después, los tubos fueron centrifugados a 2000 g por 10 min y el precipitado se digirió (60°C durante 2-6 h) con 20 ml de NaOH 2M por g de tejido. Posteriormente, las muestras se lavaron con agua desionizada. Para observar y contar las presuntas hipnosporas de *P. marinus*, se agregó 1 ml de lugol en cada tubo. Las hipnosporas se observaron al microscopio (10X y 40X) como células esféricas de color oscuro o negro azulado ($20-70\ \mu\text{m}$ de diámetro) (Bushek *et al.*, 1994; OIE, 2019). La prevalencia [(número de organismos con evidencia de hipnosporas/total de organismos)X100, Thrusfield, 1995], carga parasitaria (hipnosporas/g de tejido) e intensidad de infección (negativa = sin hipnosporas, ligera = $<1 \times 10^4$ hipnosporas/g, moderada = $1 \times 10^4-5 \times 10^5$ hipnosporas/g, intensa = $>5 \times 10^5$ hipnosporas/g, de acuerdo con Bushek *et al.*, 1994) de *P. marinus*, se obtuvieron en cada muestreo.

Los mejillones que fueron positivos a la presencia de presuntas hipnosporas con RFTM fueron analizadas con la prueba PCR. La extracción de DNA se realizó de las muestras de tejidos almacenadas (B) con reporte de presuntas hipnosporas del conjunto de tejidos (A). Este procedimiento se realizó con DNAzol® y proteinasa K, a 0.1 g de tejido de branquia, incubándolas a 55°C durante 24 horas (Pinho-Ferreira *et al.*, 2015; Escobedo-Fregoso *et al.*, 2017); la extracción de DNA se resuspendió con 50 μL de agua ultrapura y se almacenaron a -20°C hasta su uso. La amplificación de DNA se realizó usando la reacción en cadena de polimerasa (PCR) (OIE, 2019) con los primers PmarITS-70F (5'-CTT-TTG-YTW-GAG-WGT-TGC-GAG-ATG -3') y primer inverso PmarITS600R (5'-CGA-GTT-TGC-GAG-TAC-CTC-KAG-AG-3') para *P. marinus* (Audemard *et al.*, 2004) con un volumen de reacción de 20 μL con 1 μL de DNA: Buffer 10X, MgCl₂ (50mM), 1 U Taq DNApolimerasa (Invitrogen®); dNTP's (10mM), 1 μL de cada primers y H₂O ultrapura. Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial (95°C por 3 min), 35 ciclos de amplificación (95°C por 1 min, 60°C por 1 min y 72°C por 1 min) y extensión final a 72°C por 5 min. En todas las reacciones se incluyó un control positivo de ADN genómico de *C. corteziensis* infectado por *P. marinus* y un control negativo, consistente en la mezcla de reacción de la PCR sustituyendo el ADN por agua ultrapura estéril. Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en un gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio; como referencia, se utilizó un marcador de peso molecular de 0.1 a 1 Kb. Se aplicó una carga de 80 volts por 45 min y se visualizó en el equipo BIO-Rad-Chemidoc-XRS con luz UV.

Se realizó una prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) a todos los datos obtenidos. Los datos que no mostraron una distribución normal fueron transformados (raíz cuadrada) antes de analizarlos estadísticamente. Se obtuvo el coeficiente de correlación (r) entre la prevalencia y carga parasitaria con los parámetros del sitio de muestreo usando el programa Statgraphics, con un nivel de confianza de 95% ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS

Los intervalos de la temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto de las cuatro estaciones del año, fueron $16-27^{\circ}\text{C}$, 35-36 ups, 7.85-8.21, 5.75-8.75 mg L^{-1} , respectivamente. La transparencia y profundidad fluctuaron desde 1.5 a 4 m. Del total de mejillones analizados con RFTM (N = 120), 23 (19.16%) resultaron positivos para presuntas hipnosporas, detectándose como esferas oscuras de 5-70 μm de diámetro (Fig. 2).

Los promedios estacionales de prevalencia y carga parasitaria obtenidos mediante la detección de presuntas hipnosporas de *P. marinus* con MFTR en tejidos de *M. capax*, no mostraron una tendencia a aumentar con el tiempo. La prevalencia presentó un intervalo de 6.66% en otoño 2019 a 33.33% en invierno 2019. La carga parasitaria no sobrepasó 2.75 hipnosporas/g de tejido; la intensidad de infección estacional fue de negativa a ligera. Con excepción de la salinidad que mostró correlación con la carga parasitaria ($r = 0.99$, $p = 0.002$), el resto de los parámetros físicos y químicos del agua no ejercieron influencia en los indicadores infecciosos (Fig. 3).

La confirmación de *P. marinus* por medio de la técnica de PCR (Fig. 4), se realizó con el porcentaje de mejillones que dieron positivo al MFTR (5%).

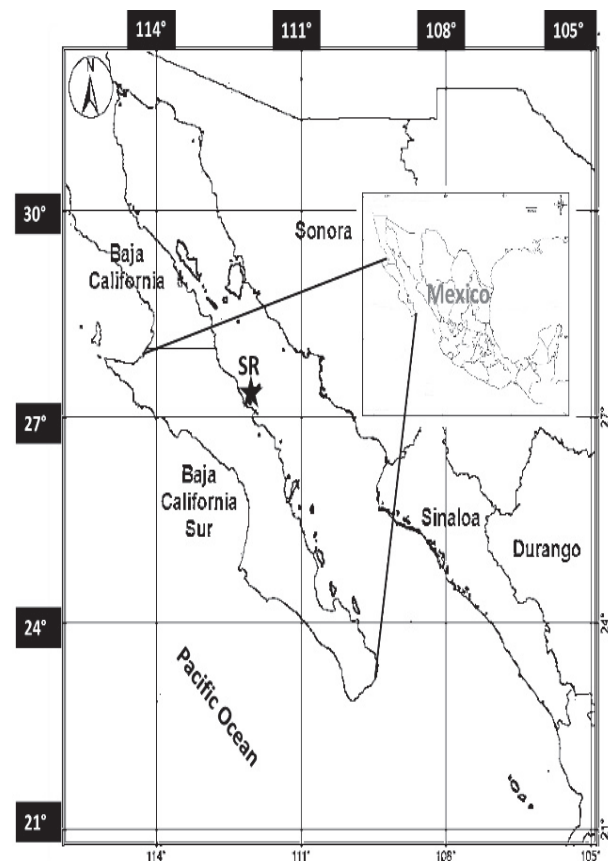


Figura 1.- Localización geográfica del sitio de muestreo (SR ★), Santa Rosalía, Baja California Sur, México.

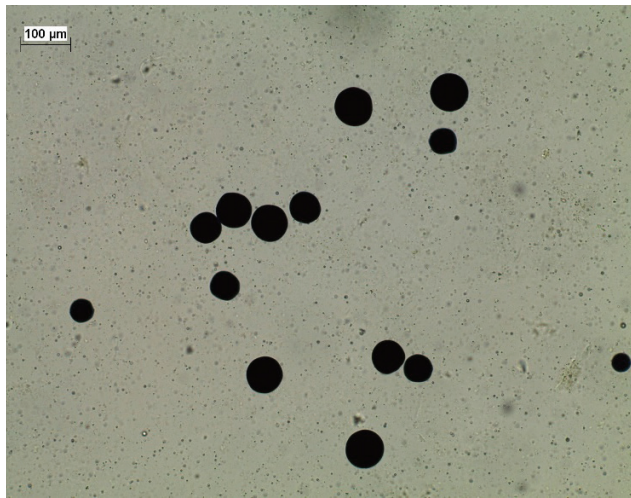


Figura 2.- Presuntas hipnosporas de *Perkinsus marinus* en tejido de *Modiolus capax* (tinción de tioglicolato, 40X). Intensidad de infección nivel negativa a ligera ($<10^4$ hipnosporas/g, Bushek *et al.*, 1994). Escala de la barra = 100 µm.

DISCUSIÓN

Por los diversos reportes que previamente han documentado la presencia de *Perkinsus marinus* en el Golfo de California (GC), es posible afirmar que este protozoario se ha distribuido y adaptado a las condiciones de la zona habitando en diferentes especies de moluscos bivalvos (Góngora-Gómez *et al.*, 2016, 2020), principalmente de importancia comercial (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010, 2015; Cáceres-Martínez *et al.*, 2012), ubicados en la costa este del GC. En este trabajo, se detec-

taron corpúsculos esféricos oscuros, característicos con la descripción de las hipnosporas de este parásito (OIE, 2019), en casi el 20% del total de mejillones recolectados en un año, los cuales, presentaron una prevalencia y carga parasitaria por debajo de 35% y 3 hipnosporas/g, respectivamente. Esta baja prevalencia es similar a las documentadas por Cáceres-Martínez *et al.* (2012) para una población silvestre del “ostión perro”, *Saccostrea palmula* (Carpenter, 1857) y por Navarro-Chávez (2021), quien trabajó con la almeja arenera, *Chionista fluctifraga*, cultivada en una zona intermareal. Sin embargo, es menor a la reportada en varios estudios realizados con diversas especies de bivalvos en la costa este del Golfo de California (Tabla 1), independientemente de haberse tratado de poblaciones naturales (Góngora-Gómez *et al.*, 2019b, 2020) o de producción controlada (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010, 2015; Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla, 2013; Villanueva-Fonseca *et al.*, 2020). Por otro lado, la carga parasitaria promedio del mejillón, *Modiolus capax*, en Santa Rosalía, B. C. S., fue tan baja como la encontrada en una población silvestre de *Atrina maura* (Góngora-Gómez *et al.*, 2016) y para la almeja chocolata, *Megapitaria squalida*, y el ostión japonés, *Magallana* (\approx *Crassostrea*) *gigas*, bajo condiciones de cultivo (Góngora-Gómez *et al.*, 2019a, 2019c). Lo anterior sugiere que, por la baja prevalencia y carga parasitaria encontradas, no es posible determinar una tendencia específica con relación al origen de cada especie de bivalvo (silvestre o cultivo) estudiada en la costa este de Baja California, lo cual, estaría más bien sujeto a la susceptibilidad de cada una de ellas hacia la presencia del patógeno en sus tejidos (Villalba *et al.*, 2004). Además, el intervalo de la intensidad de infección (negativa a moderada), indica que el estado de salud de las poblaciones silvestres o de cultivo reportadas (Tabla 1) no se encontraría amenazada por *P. marinus*. Lo mismo puede deducirse para la población de *M. capax* en Santa Rosalía, BCS, ya que la intensidad de infección fue de negativa a ligera en todo el año.

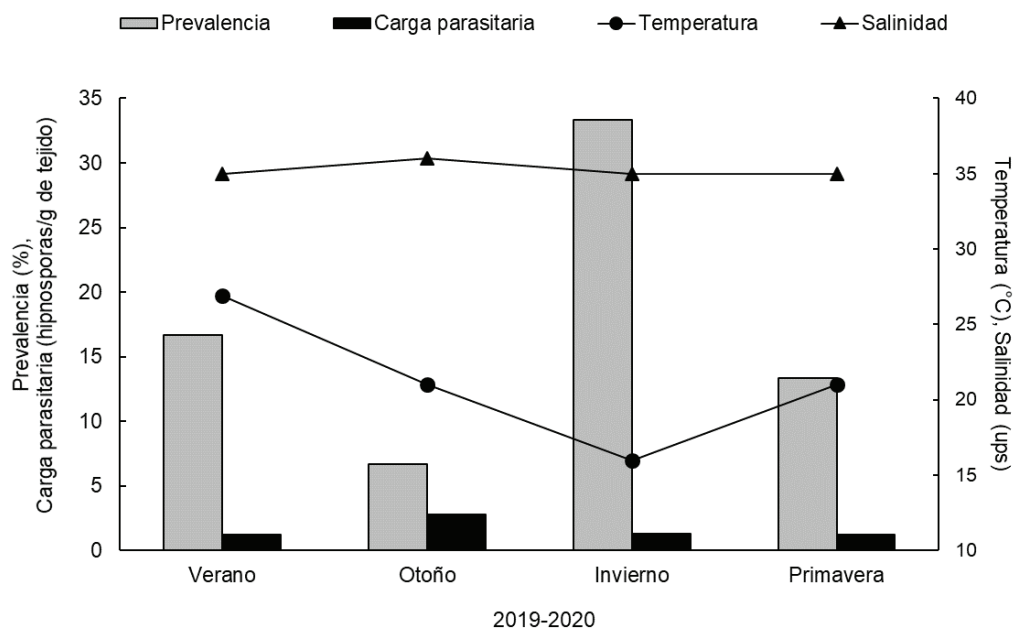


Figura 3.- Variación estacional de la prevalencia (%) y carga parasitaria (hipnosporas/g de tejido) obtenidos mediante la detección de presuntas hipnosporas (MFTR) de *P. marinus* en tejidos de *M. capax*, y temperatura (°C) y salinidad (ups) en Santa Rosalía (SR), Baja California Sur, México.

Tabla 1. Reportes de *Perkinsus marinus* y especies similares de *Perkinsus* spp. en diferentes especies de moluscos bivalvos en el Golfo de California.

Parásito	Hospedero	Silvestre o cultivo (estado)	Prevalencia (%)	Intensidad de infección	Carga Parasitaria	T °C	Salinidad	PCR	Referencia
<i>P. marinus</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	Cultivo (Sonora)	100	-	3,558-165,112***	-	-	Si	1
<i>P. marinus</i>	<i>Saccostrea palmula</i>	Silvestre (Sinaloa)	6.7 – 20	-	-	-	-	Si	2
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Crassostrea gigas</i>	Cultivo (Sinaloa)	3.3 – 40	1-2*	-	29-32	-	Si	3
<i>P. marinus</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	Cultivo (Sonora)	3.3-60	Ligera*	-	-	-	Si	4
	<i>Chionista fluitifraga</i>								
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Atrina maura</i>	Silvestre (Sinaloa)	40-90	Negativa a moderada*	1.9-2.3****	-	-	Si	5
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Megapitaria squalida</i>	Cultivo (Sinaloa)	0-43.33	Leve*	0-2.2****	20-32.5	29.8-35	No	6
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Megapitaria squalida</i>	Silvestre (Sinaloa)	0-70	Negativa a ligera**	2-2,150***	26.68±5.55	35.16±2.97	No	7
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Crassostrea gigas</i>	Cultivo (Sinaloa)	26.66-83.33	Muy ligera a ligera*	0.13-1.2***	19.7-30.8	30-38.6	No	8
<i>P. marinus</i>	<i>Crassostrea corteziensis</i>	Cultivo (Sinaloa)	0-100	Ligera**	3,226-9,242***	27.8±4.5	39.45	Si	9
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Megapitaria squalida</i>	Silvestre (Sinaloa)	0-43.33	Negativa a moderada*	0-34****	16.9-37	29-40	No	10
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Chionista fluitifraga</i>	Cultivo (Sinaloa)	3.3-13.3	Negativa a ligera**	2-1,286***	15.9-32.1	25-40	No	11
<i>P. marinus</i>	<i>Modiolus capax</i>	Silvestre (BCS)	0-33.33	Ligera**	<3***	16-27	35-36	Si	12

*Mackin (1962); **Busheck *et al.* (1994); ***hipnosporas/g; ****hipnosporas/preparación. 1 = Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010; 2 = Cáceres-Martínez *et al.*, 2012; 3 = Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla, 2013; 4 = Enríquez-Espinoza *et al.*, 2015; 5 = Góngora-Gómez *et al.*, 2016; 6 = Góngora-Gómez *et al.*, 2019a; 7 = Góngora-Gómez *et al.*, 2019b; 8 = Góngora-Gómez *et al.*, 2019c; 9 = Villanueva-Fonseca *et al.*, 2020; 10 = Góngora-Gómez *et al.*, 2020; 11 = Navarro-Chávez, 2021; 12 = Este estudio.

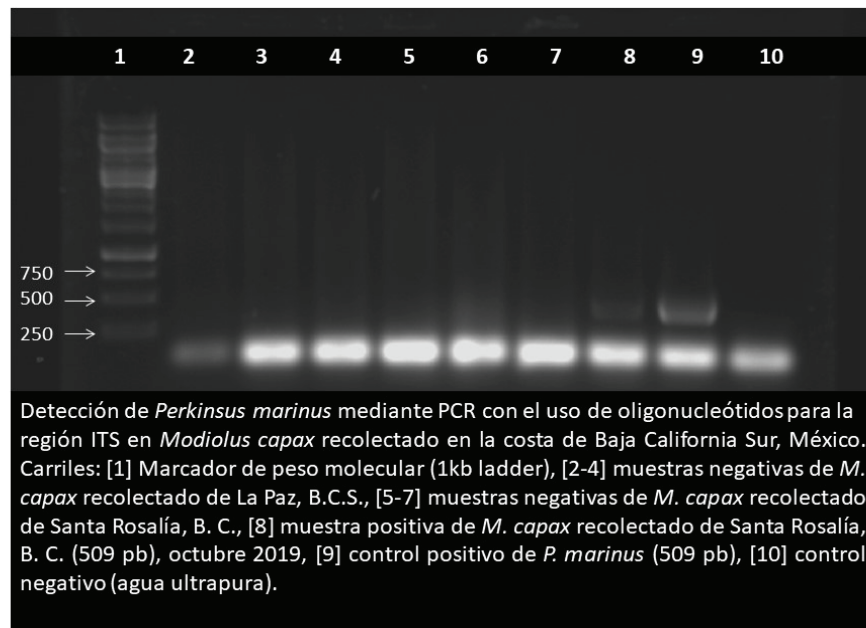


Figura 4.- Productos de PCR obtenidos mediante electroforesis con gel de agarosa para los tejidos de *Modiolus capax* en Santa Rosalía, Baja California Sur, México.

La relación entre la expresión infecciosa de *P. marinus* y algunos parámetros está bien documentada. La temperatura y la salinidad son los dos factores más reconocidos por inducir la infección de *P. marinus* en bivalvos (Villalba *et al.*, 2004; Cáceres-Martínez & Vázquez-Yeomans, 2013; Smits *et al.*, 2020). El mayor nivel de infección -asociado también a mortalidades-, se relaciona con el final del verano, cuando la temperatura del agua se mantiene por encima de 25 °C; y/o al aumento en la concentración de la salinidad (>25 g L⁻¹) (Ramos-Queiroga *et al.*, 2016), sin embargo, ambos parámetros pueden actuar separadamente en el proceso infeccioso. Por ejemplo, Gignoux-Wolfsohn *et al.* (2020) observaron que la temperatura tuvo un fuerte e inmediato efecto en el número de células infecciosas de *P. marinus* liberadas a la columna de agua por ostiones infectados, mientras que la influencia de la salinidad en la intensidad de infección estuvo asociada a la exposición de los ostiones a altas concentraciones durante varios meses. En el presente estudio, solo la salinidad mostró correlación positiva con la cantidad de hipnosporas del patógeno detectadas por gramo de tejido analizado, lo cual, pudiera explicarse por el registro de altos valores para este parámetro en los cuatro muestreos, manteniéndose por encima de 35 g L⁻¹ de salinidad. La Peyre *et al.* (2006) mencionan que altas concentraciones de salinidad en el agua promueven la proliferación de *P. marinus* en algunos ostiones. Lo anterior coincide con las observaciones de Marshall *et al.* (2021), quienes obtuvieron el mayor grado de infección en el ostión del Atlántico, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) para un sitio de cultivo que registró elevadas concentraciones de salinidad dentro del Golfo de México. Sin embargo, no existen reportes que describan el comportamiento infeccioso de este protozooario en el mejillón “choro” *M. capax*, por lo que no es posible establecer comparaciones específicas.

De manera general, cuando se obtienen bajos valores en la carga parasitaria, que indica una afectación ligera por parte del parásito, el diagnóstico de la enfermedad y la confirmación de la especie de *Perkinsus* sp. suele dificultarse, y el uso de la tinción con tioglicolato puede no arrojar evidencia patológica suficiente (Petty, 2010), por lo que deben aplicarse otras técnicas con alta sensibilidad y especificidad -moleculares y/o genéticas- como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En este estudio, la mayor prevalencia del parásito por PCR fue de 5%, siendo menor al obtenido por MFTR; sin embargo, la cantidad de material de ácidos nucleicos fue suficiente para que *P. marinus* fuera detectado, coincidiendo con lo documentado por Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla (2013) para el ostión japonés en cultivo. Dungan & Reece (2020) y Vivanco *et al.* (2020) recomiendan recolectar especímenes moribundos en el entorno del sitio de muestreo para evaluar con mayor seguridad mediante estas dos técnicas, el daño infeccioso que pueda provocar este protozooario.

De particular interés, resulta la posible influencia que ejercería la actividad antropogénica en la interacción *P. marinus*/*M. capax* de la zona de muestreo. Específicamente, en la costa este de Baja California Sur, se desarrollan diversas actividades antropogénicas (urbanización, turismo, pesquería y minería, Romero-Gil, 1991) distintas a las que se realizan a lo largo de la costa este del Golfo de California, donde predomina la agricultura intensiva, acuicultura y manufactura, entre otras (Frias-Espéricueta *et al.*, 2011; Muñoz-Sevilla *et al.*, 2017) y cuyos efectos en algunas especies de moluscos han sido reportados. Por ejemplo, Yee-Duarte *et al.* (2017, 2018, 2020) revelaron desórdenes fisiológicos reproductivos en la almeja chocolata *M. squalida* asociados a compuestos tóxicos en la zona de nuestro muestreo. Similares

conclusiones fueron reportadas por Roldán-Wong *et al.* (2018), Cadeña-Cárdenas *et al.* (2009) y Muñoz-Barbosa & Huerta-Díaz (2013) para el cefalópodo *Octopus hubbsorum* (Berry, 1953) y algunos mejillones como *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758) y *M. capax* en esta zona minera. De manera puntual, el puerto minero de Santa Rosalía es considerado un “hot spot” debido a los altos niveles de metales depositados en el sedimento costero (Shumilin *et al.*, 2013). Lo anterior advierte de posibles efectos asociados entre la contaminación local con el grado de infección del protozoario en el mejillón, como lo sugiere Morley (2010) para otras especies de moluscos. Aunque este estudio no generó evidencia al respecto, es recomendable la realización de estudios patológicos futuros considerando ambos aspectos.

Se concluye que: 1) *P. marinus* es reportado por primera vez hospedado en *M. capax*, 2) el haber encontrado este protozoario en una especie sin valor comercial en la costa oeste del GC, indica que *P. marinus* amplió su abanico de distribución, por lo que será necesario monitorear su presencia en aquellas especies de moluscos comercialmente importantes mediante la aplicación de programas sanitarios constantes, 3) la prevalencia, carga parasitaria e intensidad infecciosa del protozoario sugieren que *M. capax* presenta baja susceptibilidad a su infección, por lo que la salud del mejillón no se encuentra comprometida ante la presencia de *P. marinus* en sus tejidos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo logístico y financiero del Instituto Politécnico Nacional (IPN), a través de la Secretaría de Investigación y Posgrado (IPN-SIP) y la Comisión de Operaciones y Fomento de Actividades Académicas (IPN-COFAA) a los proyectos (IPNSIP 20200527, IPNSIP 20210086, IPNSIP 20210540, IPNSIP-20200526 y IPNSIP-20210085). MFNC y MJAC agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, México) por la beca otorgada para la realización de estudios de posgrado.

REFERENCIAS

- AUDERMAN, C., K. S. REECE & E. M. BURRESON. 2004. Real-time PCR for detection and quantification of the protistan parasite *Perkinsus marinus* in environmental waters. *Applied Environmental Microbiology* 70: 6611-6618. DOI:10.1128/AEM.70.11.6611-6618.2004
- BUSHEK, D. & S. K. JR. ALLEN. 1996. Races of *Perkinsus marinus*. *Journal of Shellfish Research* 15:103-7.
- BUSHEK, D., S. E. FORD & S. K. ALLEN. 1994. Evaluation of methods using ray's fluid thioglycollate medium for diagnosis of *Perkinsus marinus* infection in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Annual Review of Fish Diseases* 4:201-217.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J. & R. VÁSQUEZ-YEOMANS. 2013. Enfermedades, parásitos y episodios de mortalidad de ostiones de importancia comercial en México y sus implicaciones para la producción. *Ciencia Pesquera* 21:5-48.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J. & R. VÁSQUEZ-YEOMANS. 2014. *Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de moluscos bivalvos*. OIRSA-OS-PESCA, San Salvador. 117 p.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., R. VÁSQUEZ-YEOMANS, G. PADILLA-LARDIZÁBAL & M.A. DEL RIO-PORTILLA. 2008. *Perkinsus marinus* in pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* from Nayarit, Pacific coast of Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology* 99:66-73. DOI:10.1016/j.jip.2008.03.005
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., M. GARCÍA-ORTEGA, R. VÁSQUEZ-YEOMANS, T.J. PINEDA-GARCÍA, N.A. STOKES & R.B. CARNEIGE. 2012. Natural and cultured populations of the mangrove oyster *Saccostrea palmula* from Sinaloa, Mexico, infected by *Perkinsus marinus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 110:321-325. DOI:10.1016/j.jip.2012.03.019
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., L.H. MADERO-LÓPEZ, G. PADILLA-LARDIZÁBAL & R. VÁSQUEZ-YEOMANS. 2016. Epizootiology of *Perkinsus marinus*, parasite of the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis*, in the Pacific coast of Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology* 139:12-18. DOI:10.1016/j.jip.2016.07.003
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., R. VÁSQUEZ-YEOMANS, P. DANIGO & C. REYES-ROEL. 2018. Histological alterations in Pacific oysters *Crassostrea gigas* that survived a summer mortality event in Baja California, Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health* 30:3138. DOI:10.1002/aah.10006
- CADENA-CÁRDENAS, L., L. MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, T. ZENTENO-SAVÍN, J. GARCÍA-HERNÁNDEZ & B. ACOSTA-VARGAS. 2009. Heavy metal levels in marine mollusks from areas with, or without, mining activities along the Gulf of California, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 57:96-102. DOI:10.1007/s00244-008-9236-0
- COAN, E.V. & P. VALENTICH-SCOTT. 2012. *Bivalve seashells of tropical west America: marine bivalve mollusks from Baja California to northern Peru (I)*. Santa Barbara Museum of Natural History, California. 1223 p.
- DANTAS-NETO, M.P., R. MAGGIONI, L.F.F. NOGUEIRA, J.M. FORTE, R.G. FEIJÓ & R.C. SABRY. 2020. *Perkinsus* sp. infecting three important mollusks from Jaguaribe River estuary, Ceará, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 57(1):e158316. DOI:10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2020.158316
- DUNGAN, C.F. & K.S. REECE. 2020. ASF Fish Health Section. SECTION 1-DIAGNOSTIC. Diagnostic Procedures for Finfish and Shellfish Pathogens. Chapter 5. *Perkinsus* spp. Infections of Marine Molluscs. Available online at: <https://units.fisheries.org/fhs-fish-health-section-blue-book-2016/section-1-diagnostic/> (consultado el 20 marzo 2021).
- EK-HUCHIM, J.P., M.L. AGUIRRE-MACEDO, M. AMÉNDOLA-PIMENTA, V.M. VIDAL-MARTÍNEZ, J.A. PÉREZ-VEGA, R. SIMÁ-ÁLVAREZ, I. JIMÉNEZ-GARCÍA, R. ZAMORA-BUSTILLOS & R. RODRÍGUEZ-CANUL. 2017. Genetic signature analysis of *Perkinsus marinus* in Mexico suggests possible translocation from the Atlantic Ocean to the Pacific coast of Mexico. *Parasites & Vectors* 10:372. DOI:10.1186/s13071-017-2304-4
- ENRÍQUEZ-ESPINOZA, T., J.M. GRIJALVA-CHON, R. CASTRO-LONGORIA, J. RAMOS-PAREDES. 2010. *Perkinsus marinus* in *Crassostrea gigas* in the Gulf of California. *Diseases of Aquatic Organisms* 89:269-273. DOI:10.3354/dao02199
- ENRÍQUEZ-ESPINOZA, T.L., R. CASTRO-LONGORIA, F. MENDOZA-CANO & J.M. GRIJALVA-CHON. 2015. *Perkinsus marinus* in *Crassostrea gigas* and *Chione flucitragra* from Kino Bay, Sonora, Mexico. *Biotechnia* 17:10-13.

- ESCOBEDO-FREGOSO, C., J. RAMÍREZ-SALCEDO & R. VÁZQUEZ-JUÁREZ. 2017. Host response when *Perkinsus marinus* infection intensities increase in the oyster *Crassostrea corteziensis*. *Journal of Shellfish Research* 36(3):717-727. DOI:10.2983/035.036.0321
- FRIAS-ESPERICUETA, F.E., M. AGUILAR-JUÁREZ, I. OSUNA-LÓPEZ, S. ABAD-ROSALES, G. IZAGUIRRE-FIERRO & D. VOLTOLINA. 2011. Los metales y la camaricultura en México. *Hidrobiológica* 21:217-228.
- GARCÍA-CORONA, J.L., C. RODRÍGUEZ-JARAMILLO, P.E. SAUCEDO, J.A. LÓPEZ-CARVALLO, G.F. ARCOS-ORTEGA & J.M. MAZÓN-SUÁSTEGUI. 2018. Internal energy management associated with seasonal gonad development and oocyte quality in the horse mussel *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae). *Journal of Shellfish Research* 37(3):475-483. DOI:10.2983/035.037.0302
- GARCÍA-DOMÍNGUEZ, F.A., L. CARVALHO-SAUCEDO & N. VÉLEZ-ARELLANO. 2018. Reproductive cycle of two *Modiolus capax* (Bivalvia: Mytilidae) beds at different depths at Ensenada de la Paz, Gulf of California, Mexico. *Hidrobiológica* 28(3): 313-323.
- GARZA-AGUIRRE, M.C. & L.F. BÜCKLE-RAMÍREZ. 1989. Ciclo reproductivo del mejillón *Modiolus capax* (Conrad, 1873) (Bivalvia, Mytilidae, Amisomyaria) en la Bahía de los Ángeles, Baja California, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología* 16(1):157-170.
- GIGNOUX-WOLFSOHN, S.A., M.S.S. NEWCOMB, G.M. RUIZ & K.M. PAGENKOPP LOHAN. 2020. Environmental factors drive release of *Perkinsus marinus* from infected oysters. *Parasitology* 148(5):532-538. DOI:10.1017/S0031182020002383
- GÓNGORA-GÓMEZ, A.M., F. RUBIO-ZEPEDA, L.C. VILLANUEVA-FONSECA, E. ÁLVAREZ-DAGNINO, N.P. MUÑOZ-SEVILLA, J.A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA & M. GARCÍA-ULLOA. 2016. Primer registro de *Perkinsus* sp. (Protozoa, Apicomplexa) en el callo de hacha *Atrina maura* en Sinaloa, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 51(3):689-694. DOI:10.4067/S0718-19572016000300020
- GÓNGORA-GÓMEZ, A.M., P.A. SANDOVAL-RIVERA, L.C. VILLANUEVA-FONSECA, M. LÓPEZ-MEYER, J.C. SAINZ-HERNÁNDEZ, L.G. ESPINOSA-ALONSO, D.C. ESCOBEDO-URÍAS, J.A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA, H. RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ & M. GARCÍA-ULLOA. 2019a. Prevalencia de *Perkinsus* sp. (Apicomplexa) en la almeja chocolata *Megapitaria squalida* de la costa central de Sinaloa, México. *Hidrobiológica* 29(3):129-136. DOI:10.24275/uam/izt/dcb/hidro/2020v29n3/Gongora
- GÓNGORA-GÓMEZ, A.M., J.F. ARZOLA-GONZÁLEZ, L.C. VILLANUEVA-FONSECA, F. SOTELLO-LÓPEZ, J.A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA & M. GARCÍA-ULLOA. 2019b. Presuntas hiposporas de *Perkinsus* sp. en la almeja *Megapitaria squalida* del golfo de California. *Aquatictechnica* 1:47-52. DOI:10.33936/at.v1i1.2152
- GÓNGORA-GÓMEZ, A.M., F. RUBIO-ZEPEDA, A. SANTAMARÍA-MIRANDA, B.P. VILLANUEVA-FONSECA, A.L. DOMÍNGUEZ-OROZCO, L.C. VILLANUEVA-FONSECA, J.A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA, H. RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, L.G. ESPINOSA-ALONSO & M. GARCÍA-ULLOA. 2019c. *Perkinsus* sp. on *Crassostrea gigas* performance cultivated in the southeastern Gulf of California. *Revista Bio Ciencias* 6:e681. DOI:10.15741/revbio.06.e681
- GÓNGORA-GÓMEZ, A.M., L.C. VILLANUEVA-FONSECA, P. SANDOVAL-RIVERA, J.A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA, A.L. DOMÍNGUEZ-OROZCO, B.P. VILLANUEVA-FONSECA, B.P. & M. GARCÍA-ULLOA. 2020. Reporte de presuntas hiposporas de *Perkinsus* sp., en *Megapitaria squalida* del Golfo de California con la técnica de tinción con tioglicolato. *Journal MVZ Cordoba* 25(2):e1805. DOI:10.21897/rmvz.1805
- GRIJALVA-CHON, J.M., R. CASTRO-LONGORIA, J. RAMOS-PAREDES, T.L. ENRÍQUEZ-ESPINOZA & F. MENDOZA-CANO. 2013. Detection of a new OsHV-1 DNA strain in the healthy Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg, from the Gulf of California. *Journal of Fish Diseases* 36(11):965-968. DOI:10.1111/jfd.12028
- GRIJALVA-CHON, J.M., R. CASTRO-LONGORIA, T.L. ENRÍQUEZ-ESPINOZA, A.N. MAEDA-MARTÍNEZ & F. MENDOZA-CANO. 2015. Molecular evidence of the protozoan parasite *Marteilia refringens* in *Crassostrea gigas* and *Crassostrea corteziensis* from the Gulf of California. *Latin American Journal of Aquatic Research* 43(4):776-780. DOI:10.3856/vol43-issue4-fulltext-16
- ITO, N., Y. KOMATSU, K. MAEDA, S. HIRASE & T. YOSHINAGA. 2019. First discovery of *Perkinsus beihaiensis* in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Tokyo Bay, Japan. *Journal of Invertebrate Pathology* 166:107226. DOI:10.1016/j.jip.2019.107226
- LA PEYRE, M., S. CASAS & J. LA PEYRE. 2006. Salinity effects on viability, metabolic activity and proliferation of three *Perkinsus* species. *Diseases of Aquatic Organisms* 71:59-74. DOI:10.3354/dao071059
- MARSHALL, D.A., S.M. CASAS, W.C. WALTON, F.S. RIKARD, T.A. PALMER, N. BREAUX, M. K. LA PEYRE, J. BESERES POLLACK, M. KELLY & J.F. LA PEYRE. 2021. Divergence in salinity tolerance of northern Gulf of Mexico eastern oysters under field and laboratory exposure. *Conservation Physiology* 9(1):coab065. DOI:10.1093/conphys/coab065
- MARTÍNEZ-GARCÍA, M.F., J.M. GRIJALVA-CHON, R. CASTRO-LONGORIA, J.E. CHÁVEZ-VILLALBA, T.L. ENRÍQUEZ-ESPINOZA, A.N. MAEDA-MARTÍNEZ & E. PEÑA-MESINA. 2017. OsHV-1 and notifiable protozoa in healthy *Crassostrea corteziensis* cultured in two distant areas of the Gulf of California. *Latin American Journal of Aquatic Research* 45(4):699-707. DOI:10.3856/vol45-issue4-fulltext-6
- MORLEY, N.J. 2010. Interactive effects of infectious diseases and pollution in aquatic molluscs. Review. *Aquatic Toxicology* 96:27-36. DOI:10.1016/j.aquatox.2009.09.017
- MUÑOZ-BARBOSA, A. & M.A. HUERTA-DÍAZ. 2013. Trace metals enrichment in nearshore sediments and accumulation in mussels (*Modiolus capax*) along the Eastern coast of Baja California, Mexico: Environmental status in 1995. *Marine Pollution Bulletin* 77:71-81. DOI:10.1016/j.marpolbul.2013.10.030
- MUÑOZ-SEVILLA, N.P., B.P. VILLANUEVA-FONSECA, A.M. GÓNGORA-GÓMEZ, M. GARCÍA-ULLOA, A.L. DOMÍNGUEZ-OROZCO, R. ORTEGA-IZAGUIRRE & L.E. CAMPOS-VILLEGAS. 2017. Heavy metal concentrations in diploid and triploid oysters (*Crassostrea gigas*) from three farms on the north-central coast of Sinaloa, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment* 189:536. DOI:10.1007/s10661-017-6223-9
- NAVARRO-CHÁVEZ, M.F. 2021. Presencia de *Perkinsus* sp. en la almeja arenosa *Chionista fluctifraga* (G. B. Sowerby II, 1853) cultivada en la bahía El Colorado, Ahome, Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias (Recursos Naturales y Medio Ambiente), Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, IPN. Sinaloa, México. 51 p.

- NOM (NORMA OFICIAL MEXICANA). 1993. NOM-031-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos fresco-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias. Disponible en línea en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=468071&fecha=24103/1994&print=true (consultado el 01 febrero 2021).
- OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL). 2019. Manual de las Pruebas de Diagnóstico para Animales Acuáticos. Capítulo 2.5.6 Infección por *Perkinsus marinus*. Disponible en línea en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahm/current/chapitre_perkinsus_marinus.pdf. (consultado el 15 enero 2021).
- OLGUÍN-QUIÑONES, O. 1976. *Catálogo de especies marinas de importancia comercial en Baja California Sur*. S.I.C./Subsecretaría de Pesca. México. Instituto Nacional de Pesca. 177 p. Disponible en línea en: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/Publicaciones/Catalogos/1976-Holguin-Catalogo-especies-comerciales-en-BCS.pdf?download> (consultado el 15 de junio 2021).
- PETTY, D. 2010. *Perkinsus* infections in bivalve mollusks. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Available online at: <http://edis.ifas.ufl.edu>. (consultado el 03 febrero 2021).
- PINHO-FERREIRA, L., R.C. SABRY, P.M. DA SILVA, T.C.V. GESTEIRA, L. DE SOUZA ROMÃO, M.P. PAZ & R. MAGGIONI, R. 2015. First report of *Perkinsus behaiensis* in wild clams *Anomalocardia brasiliana* (Bivalvia: Veneridae) in Brazil. *Experimental Parasitology* 150:67-70. DOI:10.1016/j.exppara.2014.07.012
- RAMOS-QUEIROGA, F., L.F. MARQUES-SANTOS, I. ALMEIDA DE MEDEIROS & P.M. DA SILVA. 2016. Effects of salinity and temperature on in vitro cell cycle and proliferation of *Perkinsus marinus* from Brazil. *Parasitology* 143:475-487. DOI:10.1017/S0031182015001602
- RAY, S.M. 1966. A review of the culture method for detecting *Dermocystidium marinum*, with suggested modifications and precautions. *Proceedings of the National Shellfish Association* 54(1):55-69.
- REECE, K.S., C.F. DUNGAN & E.M. BURRESON. 2008. Molecular epizootiology of *Perkinsus marinus* and *P. chesapeaki* infections among wild oysters and clams in Chesapeake Bay, USA. *Diseases of Aquatic Organisms* 82:237-248. DOI:10.3354/dao01997
- RENAULT T., C. LIPART & I. ARZUL. 2001. A herpes-like virus infecting *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum* larvae in France. *Journal of Fish Diseases* 24: 369-376. DOI:10.1046/j.1365-2761.2001.00300.x
- ROLDÁN-WONG, N.T., A.K. KIDD, A.J. MARMOLEJO-RODRÍGUEZ, E. SHUMILIN, B.P. CEBALLOS-VÁZQUEZ & M. ARELLANO-MARTÍNEZ. 2018. Bioaccumulation and biomagnification of potentially toxic elements in the octopus *Octopus hubbsorum* from the Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin* 129:458-468. DOI:10.1016/j.marpolbul.2017.10.014
- ROMERO-GIL, J.M. 1991. *El Boleo de Santa Rosalía B. C. S. Un pueblo que se negó a morir*. Coedición de la Universidad de Sonora. Consejo Editorial del Gobierno del Estado de Baja California Sur y Centro de Estudios Mexicanos y Centroamericanos. Embajada de Francia en México. 436 p.
- SHUMILIN, E., A. JIMÉNEZ-ILLESAS & S. LÓPEZ-LÓPEZ. 2013. Anthropogenic contamination of metals in sediments of the Santa Rosalía Harbor, Baja California Peninsula. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90:333-337. DOI:10.1007/s00128-012-0923-1
- SMITS, M., F. ENEZ, S. FERRARESSO, G. DALLA ROVERE, E. VETOIS, J.-F. AUVRAY, L. GENESTOUT, R. MAHLA, G. ARCANGELI, C. PAILLARD, P. HAFFRAY & L. BARGELLONI. 2020. Potential for genetic improvement of resistance to *Perkinsus olseni* in the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, using DNA parentage assignment and mass spawning. *Frontiers of Veterinary Sciences* 7:579840. DOI:10.3389/fvets.2020.579840
- THRUSFIELD, M. 1995. *Veterinary epidemiology*. Black-Well Publishing, Ames Iowa, 593 p.
- VILLALBA, A., K.S. REECE, M.C. ORDÁS, S.M. CASAS & A. FIGUERAS. 2004. Perkinsosis in mollusks: a review. *Aquatic Living Resources* 17:411-432. DOI:10.1051/alr:2004050
- VILLANUEVA-FONSECA, L.C. & C.M. ESCOBEDO-BONILLA. 2013. Prevalencia del protozoario *Perkinsus* sp. en un cultivo de ostión japonés *Crassostrea gigas* en Sinaloa, México. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41:996-1002. DOI:10.3856/vol41-issue5-fulltext-19
- VILLANUEVA-FONSECA, L.C., M. GARCÍA-ULLOA, M. LÓPEZ-MEYER, B.P. VILLANUEVA-FONSECA, J.A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA, N.P. MUÑOZ-SEVILLA & A.M. GÓNGORA-GÓMEZ. 2020. *Perkinsus marinus* in the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* cultivated on the southeast coast of the Gulf of California, Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research* 48(4):529-537. DOI:10.3856/vol48-issue4-fulltext-2463
- VIVANCO, M.S., A.A. VALERA, L.A. LLANCO & E. SERRANO-MARTÍNEZ. 2020. Evaluación molecular de la presencia de *Perkinsus* spp en muestras de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) del norte del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú* 31(4): DOI:10.15381/rivpe.v31i4.19044
- XIN, L., CH. LI, CH. BAI & CH. WANG. 2018. Ostreid Herpesvirus-1 infects specific hemocytes in ark clam, *Scapharca broughtonii*. *Viruses* 10(10):529. DOI:10.3390/v10100529
- YEE-DUARTE, J.A., B.P. CEBALLOS-VÁZQUEZ, E. SHUMILIN, K. KIDD & M. ARELLANO-MARTÍNEZ. 2017. Evidence of health impairment of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) near the "hot spot" of a minig port, Gulf of California. *Hidrobiológica* 27(3):391-398.
- YEE-DUARTE, J.A., B.P. CEBALLOS-VÁZQUEZ, M. ARELLANO-MARTÍNEZ, M.A. CAMACHO-MONDRAGÓN & E. URÍA-GALICIA. 2018. Histopathological alterations in the gonad of *Megapitaria squalida* (Mollusca: Bivalvia) inhabiting a heavy metal polluted environment. *Journal of Aquatic Animal Health* 30:144-154. DOI:10.1002/aah.10015
- YEE-DUARTE, J.A., I.S. RACOTTA, M.A. CAMACHO-MONDRAGÓN, N.T. ROLDÁN-WONG, D.P. CARREÑO-LEÓN, E. SHUMILIN, K.A. KIDD & M. ARELLANO-MARTÍNEZ. 2020. Contrasting reproductive health of female clams *Megapitaria squalida* from two nearby metal-polluted sites in the Gulf of California: Potential effects of copper, lead, and cobalt. *Marine Pollution Bulletin* 160:111583. DOI:10.1016/j.marpolbul.2020.111583