

Prevalencia de *Perkinsus* sp. (Apicomplexa) en la almeja chocolata *Megapitaria squalida* de la costa central de Sinaloa, México

Prevalence of *Perkinsus* sp. (Apicomplexa) in the callista clam *Megapitaria squalida* from the central coast of Sinaloa, Mexico

Andrés Martín Góngora-Gómez¹, Pedro Antonio Sandoval-Rivera¹, Lizeth Carolina Villanueva-Fonseca¹, Melina López-Meyer², Juan Carlos Sainz-Hernández¹, Laura Gabriela Espinosa-Alonso², Diana Cecilia Escobedo-Urías³, Juan Antonio Hernández-Sepúlveda³, Hervey Rodríguez-González¹ y Manuel García-Ulloa^{1*}

Recibido: 27 de junio de 2018.

Aceptado: 31 de julio de 2019.

Publicado: diciembre de 2019.

RESUMEN

¹ Departamento de Acuicultura, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional (IPN). Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Colonia San Joachin, Guasave, Sinaloa, 81101, México

² Departamento de Biotecnología, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional (IPN). Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Colonia San Joachin, Guasave, Sinaloa, 81101, México

³ Departamento de Medio Ambiente, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional (IPN). Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Colonia San Joachin, Guasave, Sinaloa, 81101, México

*Corresponding author:

Manuel García-Ulloa: e-mail: turbotuag@hotmail.com
Tel/fax: (687) 8729626, ext. 87651.

To quote as:

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. 2019. 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/dobs/hidro/2020v29n3/Gongora

Antecedentes: Diferentes especies del protozoario *Perkinsus* spp. han sido asociados con mortalidades de moluscos comerciales. **Objetivos:** Se evaluó la prevalencia de *Perkinsus* sp. en la almeja *Megapitaria squalida* (junio 2015 a noviembre de 2016) para determinar la relación de la infección con la talla. **Métodos:** Se sembraron 5,000 semillas (5.73 mm altura de la concha y 0.03 g de peso inicial) en un refugio pesquero de Altata, Sinaloa. Se recolectaron 60 ejemplares cada mes para evaluar su crecimiento y prevalencia del parásito. Se obtuvieron los parámetros fisicoquímicos del agua (temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, profundidad y transparencia) y la longitud, largo y ancho de la concha y peso final de *M. squalida*. **Resultados:** La prueba de medio fluido de tioglicolato de Ray (MFTR) detectó células esféricas (10X) de color oscuro, indicando la presencia de presuntas hiposporas de *Perkinsus* sp. durante los primeros 17 meses de muestreo. La intensidad de la infección promedio fue de grado 2 (leve), mientras que la prevalencia máxima fue de 43.33% en los meses de noviembre (2015) y marzo (2016), con un promedio de 21.05%. Ninguna de las muestras positivas (n = 112) de *Perkinsus* sp. con MFTR confirmó la presencia del protozoario. No se obtuvo correlación ($p > 0.05$) entre la prevalencia del patógeno con todos los parámetros estudiados. **Conclusiones:** Los resultados sugieren que *M. squalida* es poco susceptible a la infección de *Perkinsus* sp. El presente trabajo representa el primer reporte de *Perkinsus* sp. en la almeja chocolata *M. squalida*.

Palabras clave: almeja chocolata, Bahía de Altata, estado sanitario, Perkinsosis, refugio pesquero

ABSTRACT

Background. Different species of *Perkinsus* spp. have been associated to mortality of commercial mollusks. **Goals.** The prevalence of *Perkinsus* sp. in the callista clam *Megapitaria squalida* was evaluated monthly (June 2015 to November 2016) to determine the relationship between the infection and size of clam. **Methods.** 5,000 clam seeds (5.73 mm height of the shell and 0.03 g of initial weight) were placed in a fishing refuge of Altata, Sinaloa. A total of 60 specimens were collected each month to evaluate their growth and parasite prevalence. The water physicochemical parameters (temperature, salinity, pH, dissolved oxygen, depth, and transparency) and the length, height, and width of the shell and final weight of *M. squalida* were obtained. **Results.** Ray's thioglycollate fluid medium test (MFTR) detected spherical cells (10X) of dark color indicating the presence of presumed hypospores of *Perkinsus* sp. during the first 17 months of sampling. The mean infection intensity was grade 2 (mild), while the maximum prevalence was 43.33% in the months of November (2015) and March (2016), with an average of 21.05%. None of the *Perkinsus* sp sample (n = 112) positively detected by MFTR confirmed the presence of the protozoan. There was no correlation ($p > 0.05$) between the prevalence of the pathogen with all the parameters studied. **Conclusions.** The results suggest that *M. squalida* is not susceptible to *Perkinsus* sp. The present represents the first report of *Perkinsus* sp. in the callista clam *M. squalida*.

Keywords: Altata Bay, callista clam, fishing refuge, Perkinsosis, sanitary status

INTRODUCCIÓN

Algunas de las principales especies de moluscos bivalvos que se producen en México están representadas por los ostiones y las almejas (SAGARPA, 2016), las cuales, son destinadas al mercado local y en algunos casos, constituyen la única fuente de ingresos para muchas familias de los campos pesqueros ubicados en los márgenes de las bahías. De los bivalvos nativos explotados comercialmente destacan: *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) (ostión de placer, Ostreidae) *Anadara* spp. (pata de mula, Arcidae), *Atrina* spp. (callo de hacha, Pinnidae), *Chione* spp. (almeja roñosa, Veneridae) y *Megapitaria* spp. (almeja chocolata, Veneridae) (SAGARPA, 2015). Las últimas estadísticas de producción de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en Sinaloa, indican un volumen total de 5,083 toneladas (CONAPEPESCA, 2018). Específicamente en Bahía Altata, Sinaloa, la captura promedio anual de *M. squalida* en 2009 fue de 41.22 toneladas, sin embargo, se presentó un colapso en el volumen de extracción en 2014 y 2017, años en los que se registraron solo 1.18 y 2.82 toneladas, respectivamente (CONAPEPESCA, 2018), lo que sugiere la acción de factores como la sobreexplotación, que han afectado su población; aunque la contaminación de su hábitat (Muñoz-Sevilla *et al.*, 2017) y las enfermedades provocadas por parásitos (Góngora-Gómez *et al.*, 2016) también deben ser considerados en la reducción de su población.

La afección de patógenos en moluscos es descrita con diversos signos que van desde el simple desarrollo de la enfermedad (Navarro-Barrera, 2011), daño en tejidos (Aguirre-Macedo *et al.*, 2007) y perforaciones de la concha (Gallo-García *et al.*, 2004), hasta mortalidades masivas (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010). Cáceres-Martínez *et al.* (2010) concluyeron que el protozoario *Perkinsus marinus* (Levine, 1978) representa uno de los mayores riesgos en la industria ostrícola. De hecho, Enríquez-Espinoza *et al.* (2010) reportaron que la mortalidad masiva registrada en más de 30 granjas de ostión de la costa de Sonora durante 2006, estuvo asociada con la presencia de este parásito. Los bivalvos que han sido infectados en el Golfo de California por diversas especies de *Perkinsus* incluyen poblaciones silvestres de ostiones (Cáceres-Martínez *et al.*, 2008; 2012), almejas (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2015) y callos de hacha (Góngora-Gómez *et al.*, 2016); además de ostiones cultivados (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010; Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla, 2013).

A pesar de los reportes acerca de la presencia de este protozoario en moluscos de la costa sureste del Golfo de California (Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla, 2013; Góngora-Gómez *et al.*, 2016), de la facilidad con que se transmite horizontalmente entre huéspedes de diferentes especies (Villalba *et al.*, 2004; OIE, 2012) y de ser la presunta causa de mortalidades en moluscos comerciales del noroeste de México (Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010; Cáceres-Martínez & Vázquez-Yoemans, 2012), no existe información disponible del estado sanitario de *M. squalida* en Sinaloa con relación a la presencia de *Perkinsus* sp., por lo que es prioritario registrar su posible aparición y grado de infección en la población silvestre de esta almeja mantenida en el refugio pesquero de bahía de Altata, Municipio de Navolato, Sinaloa, donde regularmente se siembran semillas producidas en laboratorio con fines de repoblación. Por lo tanto, la determinación de la prevalencia y grado de infección de *Perkinsus* sp. con relación a la talla de la almeja *M. squalida* del refugio pesquero de bahía de Altata, Sinaloa, representa el objetivo de la presente investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

La bahía de Altata se encuentra dentro del sistema lagunar Altata-Pabellones, Navolato, Sinaloa (Fig. 1), entre las coordenadas 24° 20' y 24° 40' de latitud norte y los 107° 30' y 108° 00' longitud oeste (CAADES, 1996). La siembra se realizó introduciendo 5,000 semillas de almeja chocolata (5.73 mm altura de la concha y 0.03 g de peso inicial) donadas por el Instituto Sinaloense de Acuicultura y Pesca (ISAPESCA), en el corral acuícola (10 X 5 metros) ubicado dentro del refugio pesquero en la bahía de Altata (Fig.1).

Las semillas fueron aclimatadas y sembradas siguiendo el método descrito por Góngora-Gómez *et al.* (2012) para especies bentónicas. Después de los primeros cuatro meses de mantenimiento en bolsas mosquiteras contenidas en canastas ostrícolas, las almejas fueron esparcidas dentro del corral. Cada mes durante 18 meses (junio 2015 a noviembre 2016), se recolectaron al azar 60 almejas del refugio pesquero mediante buceo libre (semiautónomo).

De las conchas, se obtuvieron la longitud (distancia desde la zona anterior hasta la zona posterior de la concha), altura (distancia desde el umbo hasta la parte más distal de la concha) y ancho (la parte más amplia de la concha por el lado dorsal) utilizando una regla vernier de precisión digital (0.01 mm, Mitutoyo, CD-8" CS) (Figura 2). El peso total individual se registró con una balanza granataria (0.01 g, OHAUS, Scout Pro SP 2001).

Mensualmente, se obtuvieron los parámetros fisicoquímicos *in situ*: la salinidad se registró con un refractómetro de precisión (Atago, S/ Mill, Japón); el pH se obtuvo con un potenciómetro (HANNA, HI 8314, USA); el oxígeno disuelto y la temperatura del agua se midieron con un oxímetro (YIS, 55/12 FT, Ohio 45387); la profundidad y transparencia con un disco Secchi; y para la temperatura ambiente, se utilizó un termómetro de mercurio. Para la clorofila *a* (Cl_a), las muestras de agua se analizaron de acuerdo al protocolo descrito por Strickland & Parsons (1972) y los cálculos usando la ecuación de Jeffrey & Humphrey (1975).

Para determinar la presencia de posibles hipnosporas de *Perkinsus* sp. en *M. squalida*, se preparó medio fluido de tioglicolato de Ray (MFTR), el cual, es considerado la mejor técnica para la detección de este protozoario (OIE, 2009) por su alta sensibilidad y bajo costo. El MFTR se enriqueció con dextrosa y cloruro de sodio siguiendo las concentraciones recomendadas por la OIE (2016): Para 610 ml de H₂O destilada, se agregaron 18.17 g de MFTR, 17.81 g de dextrosa y 12.2 g de NaCl. Posteriormente, se disolvieron los compuestos aplicando calor y agitación en un termo-agitador y el medio se esterilizó usando una autoclave (120 °C) por 15 minutos a una atmósfera de presión. Después, se adicionaron antibióticos (pempocilina a 500 U ml⁻¹ y estreptomycinina a 500 U ml⁻¹), se vertieron 25 ml de medio preparado en tubos de 50 ml y como antifúngico, se aplicó Nistatina a 400 U ml⁻¹ directamente en el tubo (OIE, 2016).

Las muestras de tejido (glándula digestiva, branquias y manto) recolectadas mensualmente, fueron colocadas en tubos de 50 ml conteniendo MFTR y antibióticos. Los tubos se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente durante 4-7 días. Después, los fragmentos de tejido se maceraron con una hoja de bisturí estéril sobre un portaobjetos de vidrio, se añadió solución yodada de Lugol, para finalmente, contar el número de presuntas hipnosporas mediante observación al microscopio (10X). La intensidad de infección por *Perkinsus* sp. se calculó con el uso de la escala de Mackin (1962) (Tabla 1).

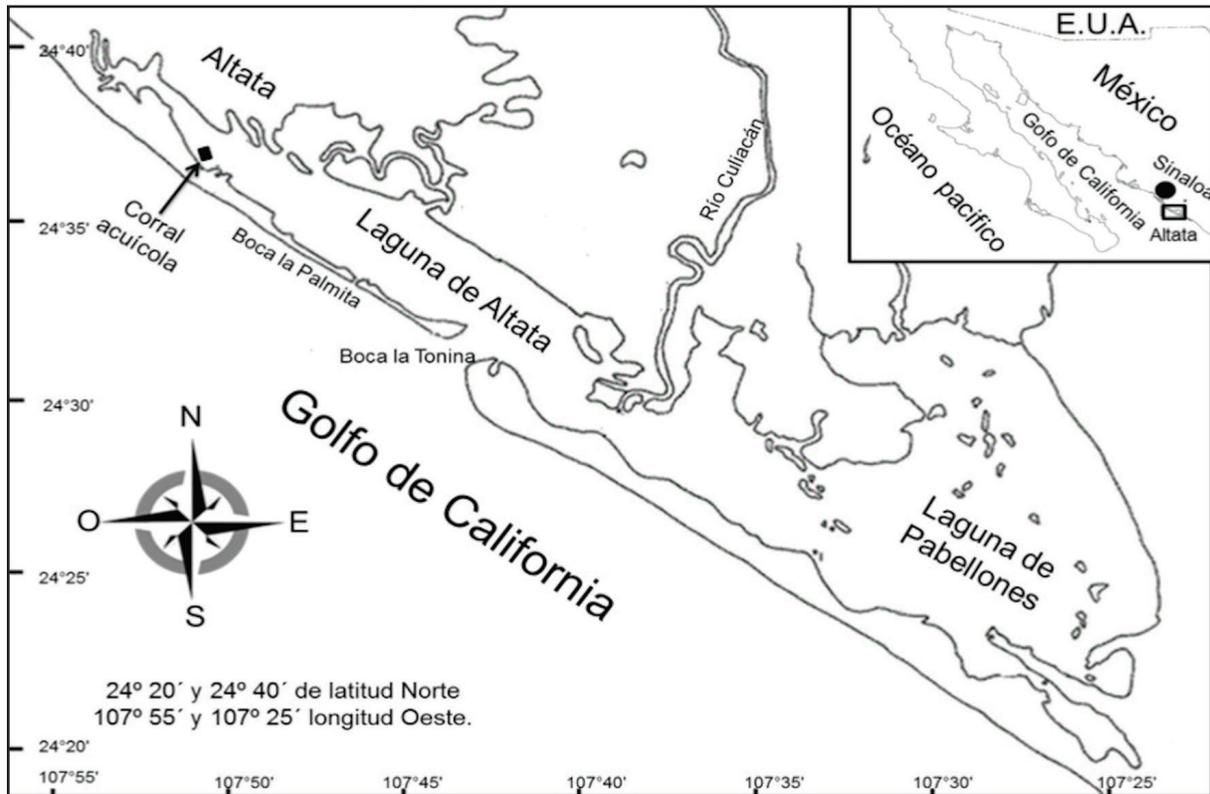


Figura 1. Localización geográfica del corral acuícola frente a la bahía de Altata-Ensenada del Pabellón, Navolato, Sinaloa.

La prevalencia de la infección (P, %) por *Perkinsus* sp. se obtuvo aplicando la fórmula de Thrusfield (1995): $P = (\text{Número de organismos infectados} / \text{No. total de organismos analizados}) \times 100$. Para confirmar la identidad del parásito se realizó un análisis de ADN con la técnica de PCR. Para eso, se extrajo ADN del tejido de branquia (50-100 mg) utilizando el método de DNAzol® siguiendo las indicaciones del fabricante (Molecular Research Center, Inc. Cincinnati OH, USA). Se aplicó la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; OIE, 2009), utilizando los oligonucleótidos PerkITS85 (5'-CCG CTT TGT TTG GAT CCC-3') y PerkITS750 (5'-ACA TCA GGC CTT CTA ATG ATG-3') (SIGMA-ALDRICH) que amplifican la región espaciadora transcrita interna (internal transcribed spacer, ITS) del rARN ribosomal de *Perkinsus* sp., obteniendo un producto de 703 pares de bases (pb) (OIE, 2009). Los componentes de la reacción fueron los siguientes: My Taq Reaction Buffer 5X (BIOLINE), My Taq DNA Polimerasa 1 U (Bioline Cat. B10 21105 y 1 μM de cada oligonucleótido. Para la reacción, se usaron 100 ng de ADN molde. Estos iniciadores detectan cualquier especie del género *Perkinsus* sp. excepto *P. qugwadi* sp. nov. (*incertae sedis*) (OIE, 2009). El volumen de cada reacción fue de 25 μL .

El ADN extraído del ostión *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) infectado por *P. marinus* fue utilizado como control positivo; mientras que el control negativo consistió en la mezcla de reacción de la PCR sustituyendo el ADN por agua estéril. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95 °C por 5 min; 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 60 °C por 1 min y 72 °C por 1

min; y extensión final de 72 °C por 5 min. Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1 % y visualizados con bromuro de etidio (1 $\mu\text{g ml}^{-1}$) bajo luz UV.

Se realizaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homoscedasticidad (Bartlett) para analizar los datos obtenidos. Las diferencias entre los promedios de cada indicador biométrico de *M. squalida* ($n = 60$ almejas cada mes durante 18 meses), se obtuvieron con las pruebas de ANOVA y de Tukey. La relación entre las variables físico-químicas, prevalencia e intensidad de la infección fueron obtenidas usando la correlación de Pearson. Para analizar los datos se utilizó el programa STATISTICA 8, a un nivel de confianza de 95%.

Tabla 1.- Escala de Mackin para calcular la intensidad de infección (Ray, 1954).

Nivel	No. de células de <i>Perkinsus marinus</i> (Levine, 1978)
1	0 (no infectada)
2	1 a 10 células (leve)
3	11 a 30 células (moderada)
4	31 a 100 células (alta)
5	Más de 101 células (muy alta)

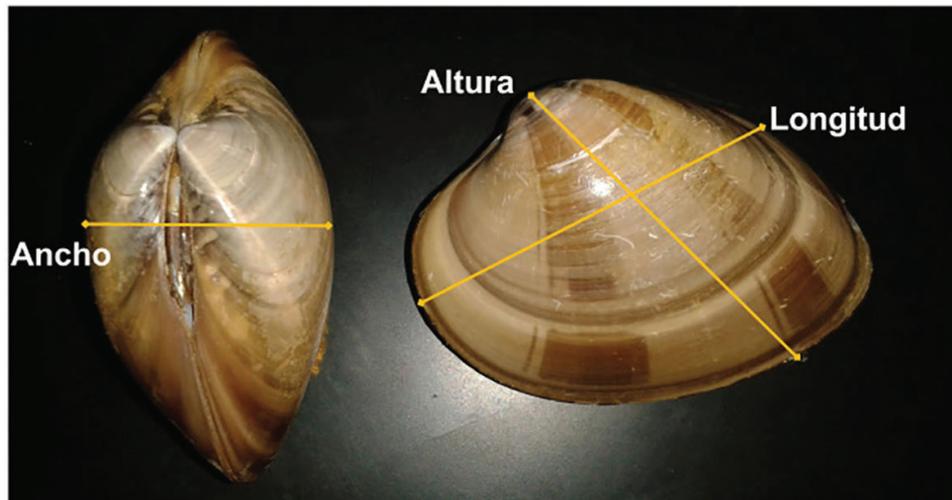


Figura 2. Medidas biométricas (longitud, altura y ancho de la concha) de *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835).

RESULTADOS

Los intervalos de las variables ambientales fueron: temperatura 20-32.5 °C, salinidad 29.8-35‰, pH 5.15-7.84, oxígeno disuelto 3.07-9.56 mg l⁻¹, profundidad y transparencia 0.7-1.8 m y clorofila *a* 0.6-11.7 mg m⁻³. Ninguno de los parámetros mostró correlación con la prevalencia de *Perkinsus* sp. ($r = -0.15$, $r = 0.22$, $r = 0.37$, $r = -0.10$, $r = 0.11$ y $r = 0.04$, respectivamente). Después de 18 meses, las almejas alcanzaron las siguientes medidas: largo de la concha = 59.6 mm, altura de la concha = 46.2 mm, ancho de la concha = 27.5 mm y peso total = 52.6 g. Al igual que los parámetros ambientales, las variables biométricas de *M. squalida* no mostraron correlación con la prevalencia mensual del parásito ($r = -0.37$, $r = -0.24$, $r = 0.40$ y $r = -0.34$, respectivamente). La detección de *Perkinsus* sp. por medio de la

técnica MFTR mostro células esféricas en el microscopio (10X) de color oscuro indicando la presencia de presuntas hipnosporas del patógeno en los primeros 17 meses (Figuras 3 y 4). La intensidad de la infección fluctuó desde 0 células (junio 2015) hasta 2.2 células (octubre 2016). En promedio, la intensidad total fue de 2 (1-10 esporas, Mackin, 1962), considerándose leve.

La prevalencia no mostró tendencia o relación con la talla de la almeja (Fig. 4).

Para la confirmación de *Perkinsus* sp. mediante la técnica de PCR, se analizaron 112 muestras (positivas con MFTR) de *M. squalida* presuntamente infectadas por el protozooario, pero ninguna resultó positiva (Figura 5).

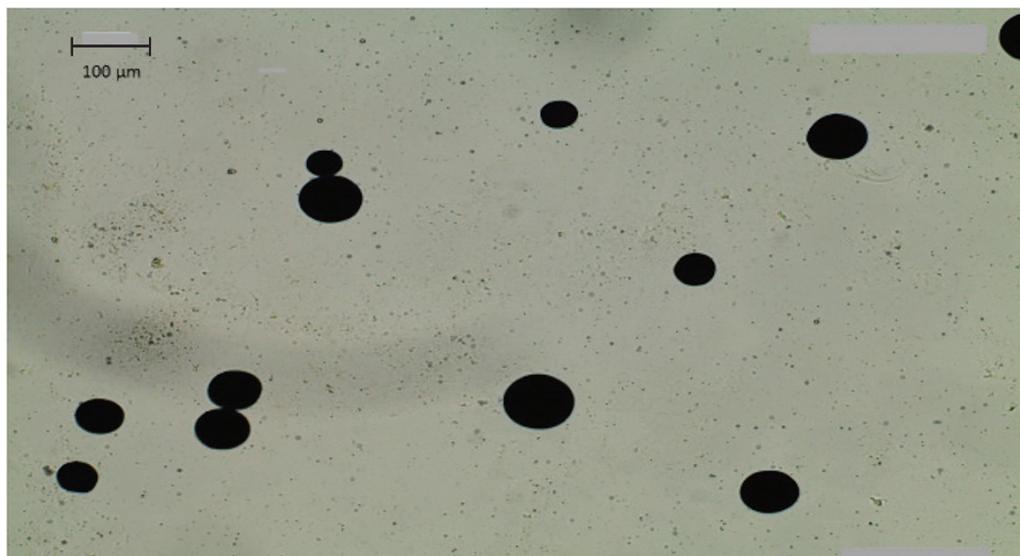


Figura 3. Presuntas hipnosporas de *Perkinsus* sp. (10X) en tejido de *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) mostrando un grado de infección 2 en la escala de Mackin (Ray 1954).

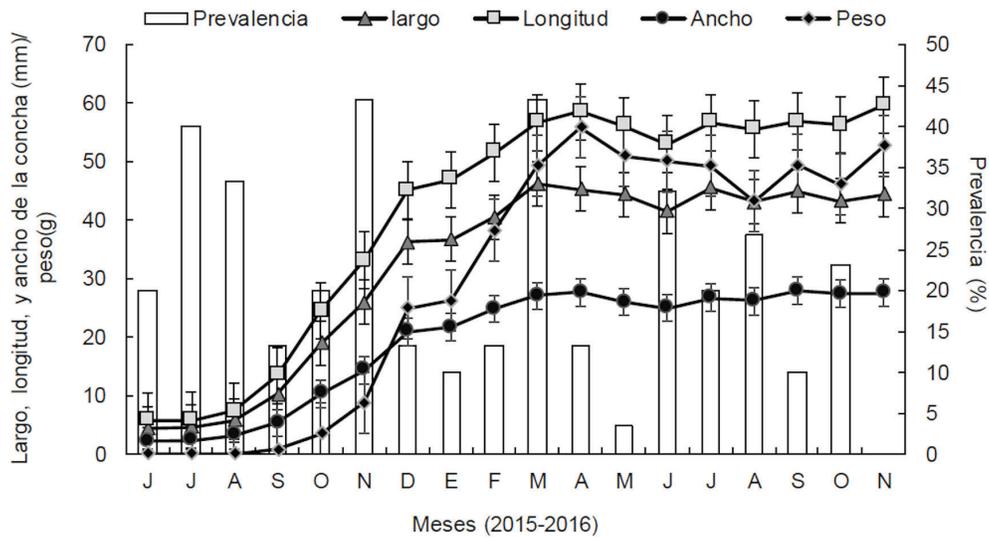


Figura 4. Prevalencia (%) de *Perkinsus* sp. y parámetros biométricos [largo, longitud y ancho de la concha (mm) y peso (g)] de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) registrada durante los 18 meses de cultivo en el corral acuícola de bahía de Altata, Navolato, Sinaloa.

DISCUSIÓN

La prevalencia e intensidad de infección de *Perkinsus* sp. fue determinada en *M. squalida* desde juveniles recién producidos en laboratorio, hasta almejas que, por la talla alcanzada después de 18 meses en el refugio pesquero, pueden considerarse como adultas (Álvarez-Dagnino *et al.*, 2017). La presencia del parásito en el primer mes (20% de prevalencia) y su ausencia en el último muestreo, sugieren que la almeja chocolata pudiera ser infectada con diferentes grados de intensidad, independientemente de su talla, lo cual, es contradictorio a lo encontrado por Taskinen & Valtonen (1995) y Yee-Duarte *et al.* (2017) quienes reportaron que la intensidad infecciosa de diversos parásitos aumenta con la talla y edad de las almejas *Anodonta piscinalis* (Nilsson, 1823) y *M. squalida*, respectivamente. La prevalencia e intensidad de infección encontradas para la almeja chocolata en este trabajo sugieren que en comparación con otros moluscos bivalvos (Aguirre-Macedo *et al.*, 2007; Gullian-Klanian *et al.*, 2008; Enríquez-Espinoza *et al.*, 2010; Pineda-García, 2011; Luz *et al.*, 2018), pudiera ser poco susceptible a *Perkinsus* spp., lo cual, coincide con las conclusiones reportadas por Sotelo-López (2014) y Sandoval-Rivera (2016) en *M. squalida* colectada cerca de la zona de este estudio. La prevalencia de la infección mostró tres picos (julio y noviembre 2015 y mayo 2016) durante el estudio sin presentar tendencia estacional, coincidiendo con Brandao *et al.* (2013) para *Crasostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). Burreson & Ragone-Calvo (1996) y Villalba *et al.* (2005) mencionan que la dinámica de infección del parásito está fuertemente asociada a la aparición de amplios intervalos en la temperatura (<20 y >30 °C) y la salinidad del agua (<15 y >35‰), lo cual, es común en el Golfo de México donde se cultiva el ostión americano *C. virginica*. En nuestro trabajo, los intervalos fluctuaron de 20 a 32.5 °C para la temperatura y de 29.8 a 35‰ para la salinidad sin presentar correlación con los indicadores de infección, lo que sugiere que dichos parámetros no alteraron la relación huésped-parásito más allá de los valores de prevalencia e intensidad infecciosa obtenidos.

La detección de esferas redondas y oscuras en *M. squalida*, características de presuntas hiposporas de *Perkinsus* sp. mediante MFTR, indicaron la presencia en lugar de infección del parásito, sin embargo, no se confirmó al probar las muestras positivas con PCR. Algunos autores mencionan que esto puede deberse a una baja intensidad infecciosa del parásito y/o a la poca cantidad de ADN del patógeno usada en la prueba (Burreson, 2008; Sanil *et al.*, 2012; Villanueva-Fonseca & Escobedo-Bonilla, 2013; Enríquez-Espinoza *et al.*, 2015). Dantas-Neto *et al.* (2015) reportó mayores prevalencias de infección de *Perkinsus* sp. en *C. rhizophorae* (Guilding, 1828) utilizando MFTR comparado con PCR, en dos esteros de Brasil. Por lo anterior, se considera que el método de MFTR es más sensible que el PCR (OIE, 2009) en la detección de presuntas hiposporas de *Perkinsus* sp. Enríquez-Espinoza *et al.* (2015) mencionan que para tener resultados positivos con la prueba de PCR, es necesario que la infección sea moderada o mayor según la escala de Mackin (Ray, 1954), lo cual, no sucedió en este estudio.

Los resultados obtenidos pueden ser discutidos analizando algunos factores externos e inherentes a la almeja. Por ejemplo, Villalba *et al.* (2004) mencionan que la fase de vida libre del parásito se caracteriza por células biflageladas que forman parte del plancton, es decir, se encuentran suspendidas en la columna de agua. Por otro lado, el hábitat bentónico de la almeja implica que una vez asentada en el fondo arenoso, donde permanece enterrada gran parte de su vida, reduciría la posibilidad de contacto entre el bivalvo con *Perkinsus* sp. Por otro lado, la mayor parte de las mortalidades reportadas para moluscos comerciales por este protozoario, se refieren a ostiones (Villalba *et al.*, 2011; Da Silva *et al.*, 2014; Scardua *et al.*, 2017), moluscos cuyos tejidos corporales son más blandos que los que presenta *M. squalida*. Lo anterior sugiere una mayor dificultad de *Perkinsus* sp. para penetrar los tejidos de la almeja, sin embargo, es necesaria la realización de estudios al respecto para confirmarlo.

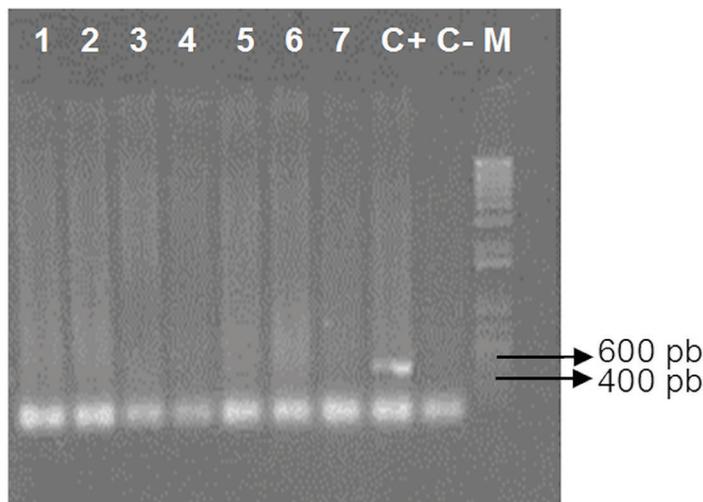


Figura 5. Diagnóstico molecular de *Perkinsus* sp. en gel de agarosa (1%). Detección de la región ITS del rRNA de *Perkinsus* sp. por PCR en *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) de la bahía de Altata, Navolato, Sinaloa. Carriles 1-7) muestras negativas de *Perkinsus* sp.; C+ Control positivo de *Perkinsus* sp.; C- Control negativo y M) Marcador de peso molecular.

Aunque la prevalencia e intensidad de infección fueron bajas, la detección de *Perkinsus* sp en *M. squalida* de la Bahía de Altata, Sinaloa, plantea la necesidad de establecer un programa de monitoreo para conocer el estado sanitario de esa población de almejas en dicho lugar, ya que cambios ambientales y/o efectos antropogénicos conjuntamente con cambios en la dinámica de infección de este patógeno u otros, pudieran poner en riesgo su condición fisiológica y tolerancia a ser infectado. De hecho, es recomendable monitorear sanitariamente otras especies de moluscos en la zona para prevenir y/o evitar una posible transmisión debido a la fácil dispersión del patógeno entre diferentes especies de moluscos (Villalba *et al.*, 2004; OIE, 2012).

El presente trabajo representa el primer informe de la presencia de *Perkinsus* sp. en *M. squalida* en la costa central de Sinaloa, considerando, además, la dinámica de la infección con relación a la talla de la almeja. Sin embargo, es importante realizar otros estudios aplicando diversas técnicas como histología, hibridación *in vitro* u otras herramientas moleculares (Shridar *et al.*, 2013; Aranguren & Figueras, 2016; Guo & Ford, 2016) para conocer el papel como huésped de la almeja en la posible dispersión del protozoario en el refugio pesquero de bahía Altata, Sinaloa y en la entidad en general. En conclusión, la prevalencia de *Perkinsus* sp. no mostró relación con el desarrollo de *M. squalida* y la intensidad de la infección fue leve (grado 2). Se infiere que la almeja chocolata presentó baja susceptibilidad al protozoario.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo logístico y financiero para la realización del presente trabajo, mediante los proyectos: “Crecimiento y supervivencia de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) cultivada en Bahía Altata, Navolato, Sinaloa” (IPN-SIP-20161188) y “Ciclo reproductivo de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en bahía Agiabampo, Ahome, Sinaloa” (IPN-SIP-20170030). AMGG (IPN-EDI y IPN-COFFA), MGU (IPN-

EDI), PASR y LCVF (BEIFI y CONACyT) agradecen el apoyo becario. MLM, JCSh, LGEA, DCEU y JAHS realizaron trabajos de laboratorio, campo y revisión del documento. Al Instituto Sinaloense de Acuicultura y Pesca (ISAPESCA), nuestro agradecimiento por las facilidades otorgadas tanto por la obtención de la semilla, como por la vigilancia y muestreo de almejas.

REFERENCIAS

- AGUIRRE-MACEDO, M. L., R. A. SIMÁ-ÁLVAREZ, M. K. ROMÁN-MAGAÑA & J. I. GÜEMEZ-RICALDE. 2007. Parasite survey of the Eastern oyster *Crassostrea virginica* in coastal lagoons of the southern Gulf of Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health* 19 (4): 270-279. DOI:10.1577/H06-050.1.
- ÁLVAREZ-DAGNINO, E., A. SANTAMARÍA-MIRANDA, M. GARCÍA-ULLOA & A. M. GÓNGORA-GÓMEZ. 2017. Reproduction of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) in the southeast Gulf of California, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 65 (3): 881-889. DOI:10.15517/rbt.v65i3.26371
- ARANGUREN, R. & A. FIGUERAS. 2016. Moving from histopathology to molecular tools in the diagnosis of mollusks diseases of concern under EU legislation. *Frontiers in Physiology* 7: 538. DOI: 10.3389/fphys.2016.00538
- BRANDAO, R. P., G. BOEHS, R. C. SABRY, L. O. CEUTA, M. S. AGUIAR LUZ, F. RAMOS QUEIROGA & P. M. DA SILVA. 2013. *Perkinsus* sp. infecting oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) on the coast of Bahia, Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology* 112 (2): 138-141. DOI:10.1016/j.jip.2012.11.003
- BURRESON, E. M. 2008. Misuse of PCR assay for diagnosis of mollusk protistan infections. *Diseases of Aquatic Organisms* 80 (1): 81-83. DOI:10.3354/dao01925

- BURRESON, E. M. & L. M. RAGONE-CALVO. 1996. Epizootiology of *Perkinsus marinus* disease of oyster in Chesapeake Bay, with emphasis on data since 1985. *Journal of Shellfish Research* 15: 17-34.
- CAADES (CONFEDERACIÓN DE ASOCIACIONES AGRÍCOLAS DEL ESTADO DE SINALOA). 1996. *Análisis de la agricultura sinaloense*. Reporte 143, 128 p.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J. & R. VÁZQUEZ-YEOMANS. 2012. *Diagnóstico sanitario mediante análisis histopatológico de ostión japonés Crassostrea gigas a la Empresa Sol Azul, SA de CV*. Informe de Resultados (Documento interno). Instituto de Sanidad Acuicola, A. C. 6 p.
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., R. VÁZQUEZ-YEOMANS & G. PADILLA-LARDIZÁBAL. 2010. Parasites of the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* cultured in Nayarit, Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health* 22 (3): 141-151. DOI: 10.1577/H09-052.1
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., R. VÁSQUEZ-YEOMANS, G. PADILLA-LARDIZÁBAL & M. A. RIO. 2008. *Perkinsus marinus* in pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* from Nayarit Pacific coast of México. *Journal of Invertebrate Pathology* 99 (1): 66-73. DOI:10.1016/j.jip.2008.03.005
- CÁCERES-MARTÍNEZ, J., M. GARCÍA-ORTEGA, R. VÁSQUEZ-YEOMANS, T. PINEDA-GARCÍA, N. A. STOKES & R. B. CARNEGIE. 2012. Natural and cultured populations of the mangrove oyster *Saccostrea palmula* from Sinaloa, Mexico, infected by *Perkinsus marinus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 110 (3): 215-325. DOI:10.1016/j.jip.2012.03.019
- CONAPESCA. 2018. *Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca*. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México, 253 p.
- DA SILVA, P. M., M. P. SCARDUA, R. T. VIANNA, R. C. MENDOÇA, C. B. VIERA, C. F. DUNGAN, G. P. SCOTT & K. C. REECE. 2014. Two *Perkinsus* spp. Infect *Crassostrea gasar* oysters from cultured and wild populations of the Rio Sao Francisco estuary, Sergipe, northeastern Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology* 119: 62-71. DOI:10.1016/j.jip.2014.04.005
- DANTAS-NETO, M. P., R. C. SABRY, L. P. FERREIRA, L. S. ROMAO & R. MAGGIONI. 2015. *Perkinsus* sp. infecting the oyster *Crassostrea rhizophorae* from estuaries of the septentrional Northeast, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 75 (4): 1030-1034. DOI:10.1590/1519-6984.06314
- ENRÍQUEZ-ESPIÑOZA, T. L., J. M. GRIJALVA-CHON, R. CASTRO-LONGORIA & J. RAMOS-PAREDES. 2010. *Perkinsus marinus* in *Crassostrea gigas* from the Gulf of California. *Diseases of Aquatic Organisms* 89 (3): 269-273. DOI:10.3354/dao02199
- ENRÍQUEZ-ESPIÑOZA, T. L., J. M. GRIJALVA-CHON, R. CASTRO-LONGORIA & F. MENDOZA-CANO. 2015. *Perkinsus marinus* in *Crassostrea gigas* and *Chione fluctifraga* from Kino Bay, Sonora, Mexico. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 17 (1): 10-13.
- GALLO-GARCÍA, M. C., M. GARCÍA-ULLOA & D. E. GODÍNEZ-SIORDIA. 2004. Evaluación de dos tratamientos en la intensidad de gusanos poliquetos asociados a las valvas del ostión *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873). *Ciencias Marinas* 30 (3): 455-464.
- GÓNGORA-GÓMEZ, A. M., M. GARCÍA-ULLOA, A. L. DOMÍNGUEZ-OROZCO, J. A. HERNÁNDEZ-SEPÚLVEDA & A. NOLASCO-ORTA. 2012. *Desarrollo Científico y biotecnología para el cultivo comercial de callo de hacha (Atrina maura), en el estado de Sinaloa México*. Mundilibros S. A. de C. V., Tlaxcala. 188 p.
- GÓNGORA-GÓMEZ, A. M., F. RUBIO-ZEPEDA, B. P. 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
- GULLIAN-KLANIAN, M., J. A. HERRERA-SILVEIRA, R. RODRÍGUEZ-CANUL & L. AGUIRRE-MACEDO. 2008. Factors associated with the prevalence of *Perkinsus marinus* in *Crassostrea virginica* from the southern Gulf of Mexico. *Diseases of Aquatic Organisms* 79 (3): 237-247. DOI:10.3354/dao01910
- GUO, X. & S. E. FORD. 2016. Infectious diseases of marine mollusks and host responses as revealed by genomic tools. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences* 371(1689):20150206. DOI:10.1098/rstb.2015.0206
- JEFFREY, S. W. & G. F. HUMPHREY. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a1, b1, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemical and Physiology Pflanz* 167:191-194.
- LUZ, M. S. A., F. S. CARVALHO, H. C. OLIVEIRA & G. BOEHS. 2018. *Perkinsus beihaiensis* (Perkinsozoa) in oysters of Bahia State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 78 (2): 289-295. DOI: 10.1590/1519-6984.07016
- MACKIN, J. G. 1962. *Oyster disease caused by Dermocystidium marinum and other microorganisms in Louisiana*. Institute for Marine Science University of Texas. Texas, pp. 132-229.
- 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 (11): 536. DOI:10.1007/s10661-017-6223-9
- NAVARRO-BARRERA, A. A. 2011. Distribución, prevalencia e intensidad de *Perkinsus marinus*, parásito del ostión de placer *Crassostrea corteziensis*, en el estado de Nayarit, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, CICESE. Ensenada, Baja California. 66 p.
- OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL). 2009. *Infection with Perkinsus marinus*. Manual of Diagnostic Test for Aquatic Animals, 2.4.5. 12 p.
- OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL). 2012. *Manual of diagnostic test for Aquatic Animals*. Available online at: <http://www.oie.int/es/normasinternacionales/manual-acuatico/acceso-enlinea> (consultado el 25 de mayo de 2018).
- OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL). 2016. *Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos*. Disponible en línea en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahm/current/chapitre_perkinsus_marinus (consultado el 14 de abril de 2018).
- PINEDA-GARCÍA, T. J. 2011. Distribución y prevalencia de *Perkinsus marinus* y herpes-virus OsHV-1 en *Crassostrea corteziensis* y *Crassostrea gigas* en el estado de Sinaloa. Tesis de Maestría, Centro de

- Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., (CIAD). Mazatlán, Sinaloa. 60 p.
- RAY, S. M. 1954. Biological studies of *Dermocystidium marinum*, a fungi parasite of oysters. Thesis for the degree of Doctor, Rice Institute. Houston, Texas. 119 p.
- SAGARPA. 2015. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, México. Disponible en línea en: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/consulta_especifica_por_produccion (consultado el 5 de marzo de 2018).
- SAGARPA. 2016. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, México. Disponible en línea en: <http://sagarpa.gob.mx/Delegaciones/chihuahua/boletines/Paginas/B001-CSCH01-2016.aspx> (consultado el 14 de abril de 2018).
- SANDOVAL-RIVERA, P. A. 2016. Primer registro de la infección por *Perkinsus* sp., en la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en la bahía de Altata, Navolato, Sinaloa. Tesis de Licenciatura, Universidad de Occidente. Guasave, Sinaloa. 53 p.
- SANIL N. K., G. SUJA, J. LIJO & K. K. VIJAYAN. 2012. First report of *Perkinsus beihaiensis* in *Crassostrea madrasensis* from the Indian subcontinent. *Diseases of Aquatic Organisms* 98 (3):209-220. DOI:10.3354/dao02440
- SCARDUA, M. P., R. T. VIANNA, S. S. DUARTE, N. D. FARIAS, M. L. DIAS CORREIA, H. T. A DOS SANTOS & P. M. DA SILVA. 2017. Growth, mortality, and susceptibility of oyster *Crassostrea* spp. to *Perkinsus* spp. Infection during on growing in northeast Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary and Parasitology, Jaboticabal* 26 (4): 401-410. DOI:10.1590/S1984-29612017061
- SHRIDHAR, S., K. HASSAN, D. J. SULLIVAN, G. R. VASTA & J. A. FERNÁNDEZ ROBLEDÓ. 2013. Quantitative assessment of the proliferation of the protozoan parasite *Perkinsus marinus* using a bioluminescence assay for ATP content. *International Journal of Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 3: 85-92. DOI:10.1016/j.ijpddr.2013.03.001
- SOTELO-LÓPEZ, F. 2014. Detección del protozoario patógeno *Perkinsus* sp. en almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en el estero Bacorehuis, Ahome, Sinaloa. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Sinaloa. Sinaloa. 48 p.
- STRICKLAND, J. D. & PARSONS, T. R. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa. 310 p.
- TASKINEN, J. & E. T. VALTONEN. 1995. Age-, size-, and sex-specific infection of *Anodonta piscinalis* (Bivalvia: Unionidae) with *Rhipidocotyle fenica* (Digenea: Bucephalidae) and its influence on host reproduction. *Canadian Journal of Zoology* 73 (5): 887-897. DOI:10.1139/z95-104
- THRUSFIELD, M. 1995. *Veterinary epidemiology*. Black-Well Publishing, Ames Iowa. 593 p.
- VILLALBA, A., S. M. CASAS, M. C. LÓPEZ & M. J. CARBALLAL. 2005. Study of perkinsosis of the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). II. Temporal pattern of disease dynamics and association with clam mortality. *Diseases of Aquatic Organisms* 65: 257-267. DOI: 10.3354/dao065257
- VILLALBA, A., C. GESTAL, S. M. CASAS & A. FIGUERAS. 2011. Perkinsosis en moluscos. In: Figueras, A., B. Novoa (eds.). *Enfermedades de Moluscos Bivalvos de Interés en Acuicultura*. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Madrid, pp. 181-242.
- VILLALBA, A., K. S. REECE, M. C. ORDÁS, S. M. CASAS & A. FIGUERAS. 2004. Perkinsosis in molluscs: a review. *Aquatic Living Resources* 17 (4): 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(5): 996-1002. DOI:103856/vol41-issue5-fu011-text-19
- 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 mining port, Gulf of California. *Hidrobiológica* 27 (3): 391-398.