

Cuantificación de la Infección "DERMO" (*Perkinsus marinus*) (Mackin, 1950) Sobre *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1871), En la Laguna Tamiahua, Ver. Mexico.

Cuantification of infection "DERMO" (*Perkinsus marinus*)(Mackin, 1950), about
Cassostrea virginica (Gmelin, 1871) in the Tamiahua Lagoon, Veracruz, Mexico.

J. M. Romero Jarero ** P. Negrete Redondo * y G. Villegas López *

** Laboratorio de Microbiología Marina, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Circuito Exterior. Ciudad Universitaria. Delegación Coyoacán U.N.A.M. * Laboratorio de Microbiología Departamento del Hombre y su Ambiente. Calz. del Hueso 1100. Villa Quietud. Delegación Coyoacán. UAM-X.

ABSTRACT

A total of 270 samples from mantle and cardiac tissues in tioglicolate medium were analyzed in order to determine the pathogen *Perkinsus marinus* (Mackin 1950) in american Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791). The samples were collected seasonally from oysters reefs into the Tamiahua Lagoon, Veracruz, México. All the samples have *Perkinsus marinus*. The infection was moderate during winter. However highest levels were presented during fall, related directly with high salinity and temperature. Lower values were determined in Lindero and Restinga Leones reef, in the same localite. It was obvious that an infection increase would cause a high mortality in the oysters reefs.

KEY WORDS: *Perkinsus marinus*, *Crassostrea virginica*, Tamiahua Lagoon, Dermo-Disease

RESUMEN

Se analizaron 270 muestras de tejido cardíaco y tejido del manto utilizando medio líquido de tioglicolato a fin de determinar la presencia de *Perkinsus marinus* (Mackin, 1950) en la ostra *Crassostrea virginica*, (Gmelin, 1791). Las muestras se colectaron en cinco campañas, en nueve bancos ostrícolas de la Laguna de Tamiahua, Veracruz. Se detectó la presencia del parásito en todas las muestras analizadas, la infección se presentó de moderada a baja en las muestras de diciembre, febrero, junio y agosto, así como un incremento de la infección moderada en el mes de noviembre. Los niveles más altos de contaminación se registraron en las localidades de la Ribera y Amajahua, correlacionados con los aumentos en salinidad o temperatura respectivamente. Los niveles más bajos se presentaron en los bancos Lindero y Restinga Leones, las localidades restantes presentaron niveles intermedios con ligeros decrementos de un muestreo a otro; sin embargo, es preocupante la presencia de la infección, ya que podría aumentar en una forma incontrolable y causar una alta mortalidad en los bancos ostrícolas.

PALABRAS CLAVE: *Perkinsus marinus*, *Crassostrea virginica*, Laguna de Tamiahua. Enfermedad «Dermo».

INTRODUCCIÓN

La Laguna de Tamiahua, es una albufera de aguas salobres situada en el estado de Veracruz, entre los ríos Pánuco y Tuxpan. Pertenece a una de las tres lagunas litorales más grandes de la costa oriental de la República Mexicana (Cruz, 1968), irregular, alargada en sentido N-S, comprendida entre los paralelos 21°6' y 22°05' de latitud norte y los meridianos 97°22' y 97°46' de longitud oeste. Está limitada al norte con el Río

Pánuco, con el que se conecta por medio de un canal en cuyo trayecto recibe los nombres de Wilson, Calabaza y Chijol. Se limita al sur con la Barra de Corazones la cual es bastante angosta e inestable y tiende a emigrar hacia el S, su canal más profundo es de aproximadamente 1.50 m. El margen occidental, corresponde al borde continental, siguiendo una dirección S-E y en él se desembocan varios ríos, en su mayor parte de flujo estacional entre los que sobresalen: la Laja, Cucharas, Carbajal, Tanochín, Tampache y

Milpas. La parte oriental de la laguna está limitada por la barra arenosa de Cabo Rojo, que se extiende desde el Río Pánuco en dirección S-E, para después quebrarse y seguir hacia el S-O, estrechándose hasta la Barra de Corazones, en dicha barra se presentan numerosas entrantes y salientes con algunos manglares. Presenta una longitud máxima de 130 km, una anchura máxima de 6 km y mínima de 5 km. Interrumpe la línea de costa para proyectarse aproximadamente 15 km dentro del Golfo de México. La longitud de la laguna es de 115 km y en la parte más ancha mide aproximadamente 25 km, cubriendo una superficie de 880 km².

El clima es tropical de sabana intermedio, entre los tipos Amw' (tropical con intensa lluvia en otoño) y A2' (tropical con lluvia en otoño), de acuerdo con la clasificación de Pestana Suárez (Cruz, 1968).

La temperatura media máxima es de 32°C y la mínima de 15°C aproximadamente, con un promedio anual de 18°C.

Se presentan salinidad en: dos facies polihalinas, las que comprenden salinidades de 16.5 uds a 30 uds, dentro de cuyos límites queda comprendida la mayor parte de la laguna; y una facie ultrahalina, superior al 30 uds, localizada entre la Boca de Corazones y el sur de la Isla del Idolo, influenciada por las aguas marinas.

Las temperaturas del fondo y la superficie, se comportan en términos generales de manera similar, manteniéndose la mayor parte de la laguna entre 29°C y 30°C. Al sur de la laguna la temperatura disminuye a causa de las aguas que entran por la Boca de Corazones.

La vegetación de manglar se encuentra representada por los géneros *Rizophora*, *Avicenia*, *Laguncularia* y *Conocarpus*, su distribución comprende principalmente a la parte sur-occidental, así como las regiones próximas a las desembocaduras de los ríos o esteros y el sur de Cabo Rojo (Cruz, 1968).

Las actividades ostrícolas que se llevan a cabo en dicha laguna en alto grado, dado que el ostión: *C. virginica*, representa una fuente de ingreso muy importante para la zona, además de ser una actividad fácil, de bajo costo, con beneficios y utilidades casi inmediatas.

Este recurso no es inagotable los efectos de: la explotación, en muchos casos ha sido intensa y poco

cuidadosa y ; los factores naturales, entre los que se encuentran las enfermedades causadas por microorganismos, han agudizado el agotamiento de los bancos ostrícolas (Sevilla y Mondragón, 1965).

En el Golfo de México, durante los meses más cálidos del año: verano y otoño, fue reportado un alto índice de mortalidad de ostras por Hewatt y Andrews (1954). La causa más importantes fue atribuida a *Dermocystidium marinum*, patógeno descubierto en el Golfo de México por Andrews y Huch (1957) y Mackin, *et al.* (1950). Su posición intra-celular indicó que se encontraba antes del debilitamiento del ostión y era probablemente un parásito verdadero (Mackin, 1962). Ocasionando signos de enfermedades agudas y subagudas.

La posición taxonómica de *Perkinsus marinum*, ha tenido un gran número de cambios a partir de su primera descripción, hecha por Mackin *et al.* (1950) como *Dermosistidium marinum*, la selección de este nombre se debió a su apariencia de trofozoito y a la gran vacuola céntrica que contiene su vacuoplasto. Mackin y Ray (1966) cambian el nombre a *Labyrinthomysa marina*, como resultado de observaciones de estudios de los movimientos «amiboideos» en el tejido del hospedero (ostiones) y de observaciones en cultivos del patógeno, inoculados en la hemolinfa de los ostiones infectados. Las células del plasmodio presentan segmentaciones esféricas de 3-4 micrómetros, las cuales producen sustancias mucoides que emigran en movimiento lento y deslizándose en su eje (Mackin y Ray, 1966).

Trabajos posteriores de Porter (1990), Perkins (1976) y Olive (1975), fundamentaron que *Labyrinthomorpha* era sinónimo de *Labyrinthomycota*, aceptado por Porter (1990). *Labyrinthomina* de acuerdo con Olive (1975) y *Labyrintholomyces* de acuerdo con Moss (1991), del cuál el género *Labyrintholomyces* fue considerado como un taxón muy cercano a *Perkinsus spp.* (Perkins 1976). Las células observadas presentaron una gran semejanza a las observadas en *Labyrintholoides* sp (Perkins, 1973) por Mackin y Ray (1966), probablemente debido a una contaminación en los medios de cultivo de tioglicolato.

Los Labyrinthomorphidos son miembros de un grupo de protozoarios conocido como los *Stramenopides*, posiblemente involucrados con la evolución temprana de este grupo (La Peyre *et al.*, 1994).

Con la información acumulada concerniente a las características de los Labyrinthomorphias, se retoma el uso del nombre genérico de *Dermocystidium*.

Posteriormente a la demostración de un complejo apical de zoosporas del patógeno del ostión, Levine (1978) renombra al patógeno como *Perkinsus marinus*, estableciéndose una nueva clase: *Perkinsea*, orden: *Perkinsida* y familia: *Perkinsidae* y lo ubica en el Phylum *Aplicomplexa*, en función a la presencia de un complejo apical. Por lo que en la actualidad, el género del patógeno de los moluscos marinos, es denominado *Perkinsus*, sin embargo, el uso del término: "ENFERMEDAD DERMO", es usado con frecuencia para ubicar la enfermedad (Andrews, 1996; Sindermann, 1991 y Lee, et al., 1985).

Una serie de estudios demostró que el parásito se encuentra a lo largo de la costa Este, desde la Bahía de Delaware, en Estados Unidos, hasta las costas mexicanas del Golfo de México. Estos resultados se corroboraron con la técnica realizada por Ray (1952), la cual ha sido de gran ayuda para determinar la incidencia e intensidad de las infecciones causadas por *P. marinum* (Perkins y Menzel, 1966). Esta técnica consiste en incubar tejido del ostión en un medio líquido de tioglicolato, facilitando su crecimiento y observación bajo microscopio óptico.

Ray (1954) también demostró, usando su técnica de diagnóstico, que organismos similares a *P. marinum*, estaban presentes en dos especies de ostras además de *Crassostrea virginica*.

Otros bivalvos en la parte norte del Golfo de México fueron encontrados por Ray, et al. (1953) infectados con organismos semejantes a *P. marinum*, estos fueron *Crepidula plana*, *Pecten irradians*, *Anomia simplex*.

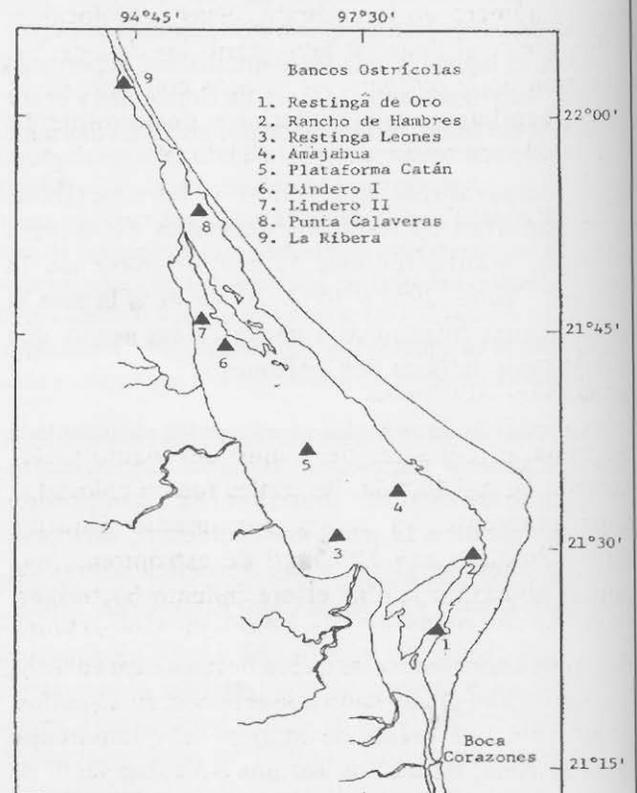
Los signos y lesiones de la infección en *C. virginica*, van desde la apariencia opalescente de la glándula digestiva hasta la reducción en la concentración de la proteína de la hemolinfa y la actividad de la lisozima. Se manifiestan también otros signos como: presencia de hendiduras en el manto desde la cámara paleal, inhibición del desarrollo gonádico, decremento del ciclo reproductivo, crecimiento retardado y en ocasiones presencia de bolsas parecidas a pus (Dungan et al., 1995, Barber, et al., 1994 y Burreson, et al., 1994).

La proliferación del parásito causa discropeia sistemática en el tejido conectivo y en las células

epiteliales, y es correlacionado en época de verano con temperaturas elevadas superiores a 20°C. Cuando las mortalidades son muy altas la infección provoca el decremento de los niveles de taurina y glicina hasta del 40% y decremento de aminoácidos libres alrededor del 33%, el cual está involucrado con el mecanismo de tolerancia de *C. virginica*. Algunos ostiones pueden sobrevivir latentes en invierno. Las mortalidades en verano superan el 95% de la población, además de la transferencia de la enfermedad a otras áreas de cultivo (Paynter, et al., 1995, Kleinschuster, et al., 1993; La Peyre, et al., 1993 y Meyers, et al., 1991).

El impacto del endoparasito en este hospedero es uno de los principales factores que son adversos a la abundancia y productividad de *C. virginica*.

Las pérdidas económicas que este patógeno ha ocasionado en bancos ostrícola de Florida, Louisiana y Texas, hacen importante el estudio de su presencia, distribución y grado de infección, en que se encuentran en los bancos ostrícolas de México.



Mapa 1 Estaciones de muestreo. Laguna de Tamiahua Veracruz.

El objetivo del presente trabajo consiste en determinar la presencia del patógeno que provoca la "ENFERMEDAD DERMO" en ocho bancos ostrícolas en la Laguna de Tamiahua en diferentes épocas del año.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se dividió en dos fases: una de campo y otra de laboratorio. La primera se basó en la colecta trimestral de ostiones distribuidos en diferentes bancos de la laguna de Tamiahua, Veracruz, tomando en cuenta que el número de ostiones extraídos dependerá de la condición y abundancia de los bancos, intentando siempre colectar un promedio de 10 ostiones por banco como lo reportan Ogle y Flurry (1980) para muestreos estacionales. La localización de las estaciones de muestreo se ubicaron de acuerdo a la localización de los bancos de ostión en la laguna. (Mapa 1).

Para cada banco se registró salinidad y temperatura utilizando un salinómetro manual y un termómetro graduado. De acuerdo a APHA (1985), los bivalvos se transportaron en bolsas de red, cada una con el número de la estación, éstas se colocaron sobre hielo, al llegar al laboratorio los ostiones se liberaron de la red para ser lavados con agua de la llave, cepillados en su exterior y posteriormente mantenidos en acuarios a salinidad de 19‰ y 20°C.

El análisis de laboratorio de las muestras, consistió en practicar primero pruebas macroscópicas: en condiciones asépticas, se abrió el organismo y se añadió 5 ml de solución de lugol 1:25, durante 5 minutos, después se procedió a efectuar las pruebas microscópicas.

Se tomaron muestras de 1 mm³ del manto y del corazón de cada ostión, las cuales fueron colocadas separadamente en tubos con medio líquido de tioglicolato con 100 mg/l de estroptomina, con el objeto de inhibir el crecimiento bacteriano (Ray, *et al.* 1953). Cada tubo, con una válvula miniret (Supelco), se gasificó con una mezcla de CO₂, 20% y N₂ 80% (marca Linde), para mantenerlos en un medio anóxico y evitar así el crecimiento de organismo que pudiera alterar los resultados.

Los tubos con el medio de cultivo y las muestras, fueron incubados a 25°C, por una semana, para ser posteriormente analizados.

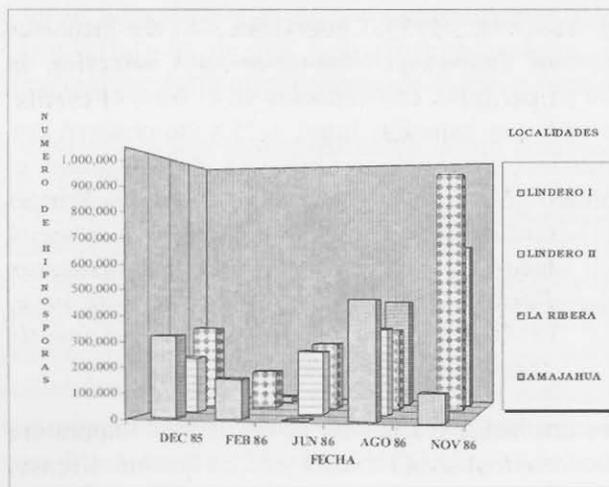
El análisis de las muestras se efectuó una semana después, tomándose una alícuota de 100 µl por tubo, colocándolas en el hemocitómetro, se tiñó con solución lugol 1:25 y se observó con microscopio óptico. Una vez determinado el número de organismos en cuatro de los cuadrantes del hemocitómetro, se realizó los cálculos necesarios con objeto de estimar el número de organismos presentes en el medio (Makin y Ray 1996 y Ray *et al.*, 1953).

RESULTADOS

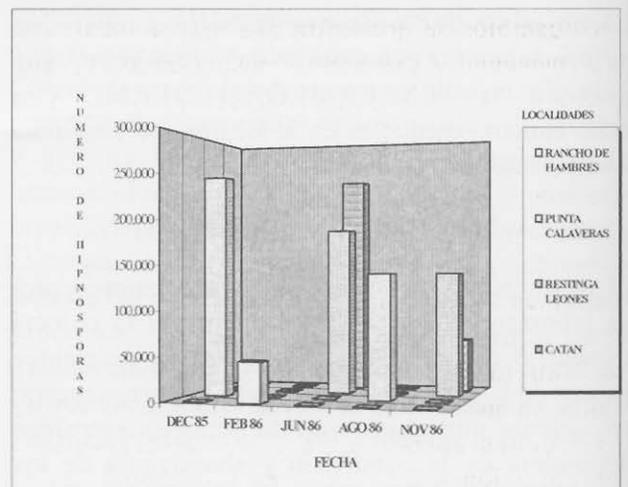
Los resultados realizados, se encuentran expresados en cifras promedio (Tablas 1 y 2). En la primera figura, los valores cuantitativos en tejido cardíaco indicaron, incremento en las hipnosporas en el banco ostrícola de la Rivera, en comparación con las otras localidades. Le sigue con muy poca diferencia en incremento de las hipnosporas, tanto por campaña como por el valor más alto, el banco de Amajahua. Los bancos con niveles más bajos y ligero decremento en los muestreos efectuados, fueron los bancos: Lindero 1 y Restinga de Leones. El banco de Lindero II, presentó una concentración de hipnosporas intermedia entre los niveles más altos y los bajos, pero con un claro incremento entre los tres muestreos estudiados. Rancho de Hambres, presentó un nivel muy bajo, en comparación con el nivel de Lindero I, que a nuestro criterio y en función del número de campañas estudiadas, es más representativo que el banco de Rancho de Hambres, en virtud de que fue un solo muestreo puntual, al igual que el banco de Punta Calaveras.

En las tablas 1 y 2, se observó que los valores más bajos de hipnosporas en tejido del manto, se ubicaron en el banco Lindero I, que es la concentración más baja, este banco registró un decremento substancial de los niveles de contaminación de *P. marinum*.

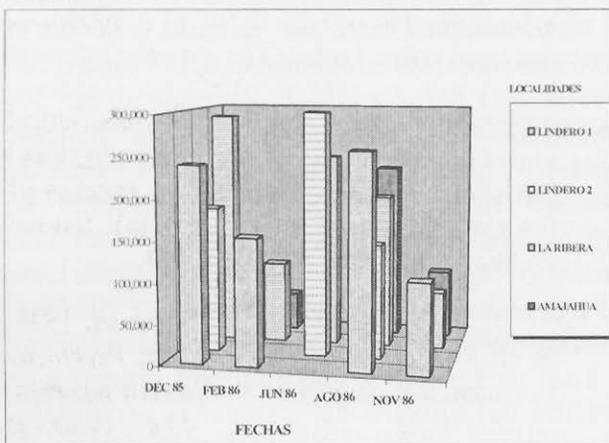
Los bancos restantes, también presentaron un decremento en sus valores, con marcadas diferencias en los resultados de un tejido y otro, así como entre ellos. Los análisis microscópicos permitieron detectar la presencia del patógeno *P. marinum* en todas las muestras, encontrando que la mayor concentración de hipnosporas, se registró en la campaña de noviembre, fundamentalmente en los bancos de La Rivera y Amajahua, además de representar un incremento sostenido de muestreo a muestreo, en el tejido del manto, en el que los valores más altos se presentaron en Catán y Restinga de Leones (Tabla 3 y 4).



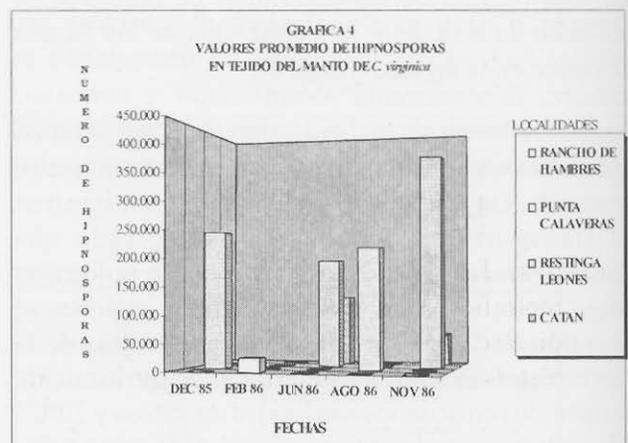
Gráfica 1. Valores promedio de hiposporas en tejido cardiaco de *Crassostrea virginica*



Gráfica 2. Valores promedio de hiposporas en tejido cardiaco de *Crassostrea virginica*



Gráfica 3. Valores promedio de hiposporas en tejido del manto de *C. virginica*.



Gráfica 4. Valores promedio de hiposporas en tejido del manto de *C. virginica*.

DISCUSIÓN

La distribución del patógeno *P. marinum*, es la misma que la de su hospedero *C. virginica*; en cambio la incidencia de la infección varía de 0 a 100%, y depende de la localidad y de las condiciones ambientales de la misma. La incidencia y la gravedad de la infección se pueden definir dependiendo de la susceptibilidad al patógeno, mismo que puede variar; de un individuo a otro y de una localidad a otra. Las variaciones en las poblaciones pueden generar una resistencia a la infección, aunque existe siempre la posibilidad de que a su vez puedan ser transportadores de la infección, pero resistentes al desarrollo de la misma (Mackin, 1962; Andrews y Huch, 1957 y Dawson, 1955). Los posibles mecanismos de defensa de *C. virginica* son poco conocidos, únicamente se han determinado una

combinación de fagocitosis y diapédesis, como una defensa efectiva que se presenta en los ostiones, ya que las hiposporas son absorbidas por el tejido y transportadas por el epitelio hasta ser expulsadas al exterior (Andrews y Huch, 1957 y Ray, 1954). Al respecto, Mackin, *et al.* (1950), reportaron que los ostiones con tallas menores presentan inmunidad y en este estudio se encontró que los ostiones de mayores tallas presentan siempre un mayor nivel de hiposporas.

Los resultados obtenidos en los tres últimos muestreos (junio, agosto y noviembre), demuestran la presencia constante de *P. marinum* en todos los organismos de los bancos muestreados. También es importante enfatizar no sólo su presencia, sino la tendencia a incrementar su nivel al variar los parámetros ambientales como temperatura o salinidad, ya que con

estos cambios se encuentra una mayor incidencia de *P. marinum*. Al respecto Macking, *et al.* (1950), determinaron que cuando la temperatura o la salinidad aumenta, se presenta una mayor concentración de hipnósporas del patógeno en estudio.

Finalmente, es importante hacer notar que a pesar de la presencia constante de *P. marinum* y de sus variaciones en los niveles de infección, no se considera que esto sea el motivo de la disminución de la producción ostrícola en la región, ya que en base a los resultados negativos de las pruebas macroscópicas, no se registraron concentraciones suficientes de hipnósporas en el hospedero como para diagnosticar una infección letal (Kleinschuster y Parent, 1995), en ninguna muestra de este estudio. Aún así, este estudio pone de manifiesto la presencia de este parásito en la región, por lo que se deberán tomar las precauciones en un futuro próximo.

LITERATURA CITADA

- Andrews, J.L. y M.C. Huch, 1957. Oyster mortality studies in Virginia. II. The fungus disease caused by *Dermocystidium marinum* in oysters of Chesapeake Bay, *Ecology* 27: 1-25.
- Andrews J. D. 1996. History of *Perkinsus Marinus*, a Patogen of Oysters in Chesapeake Bay 1950-1984. *Journal Shellfish Research*. 15: 13-16.
- Barber, B. J. y R. Mann. 1994. Growth and mortality of eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), and Pacific oysters, *Cassostrea gigas* (Thunberg, 1793) under challenge from the parasite, *Perkinsus marinum*. *Journal of Shellfish Research* 13: 109-114.
- Burreson, E. M., L. M. Ragone Calvo, J. F. La Peyre, F. Counts y K. T. Paynter. 1994. Actue osmotic tolerance of cultures cells of the oysters pathogen *Perkinsus marinum* (Apicomplexa: Perkinsida). *Comparative Biochemistry and Physiology* 109 A: 575-582.
- Cruz, R., 1968. Geología Marina de la Laguna de Tamiahua, Ver. Mex. Universidad Nacional Autónoma México. Instituto de Geología *Boletín*. 88: 1-47.
- Dawson, C.B., 1955. Observations on the incidence of *Dermocystidium marinum* infection in oysters of Apalachicola Bay, Florida, Texas. *Journal. Scientific*. 7:47-56.
- Dungan, C. F. y R. M. Hamilton. 1995. Use of tetrazolium-based cell proliferation assay to measure effects of in vitro condicions on *Perkinsus marinum* (Apicomplexa) proliferation. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 42. 379-388.
- Hewatt, W.G., y J.D. Andrews, 1954. Temprature control experiments on the fungus disease, *Dermocystidium marinum* of oysters. *Procidins National Shellf Association*. 46: 129-133.
- Kleinschuster, S. J. y S. L. Swink. 1993. A simple method for the in vitro culture of *Perkinsus marinum*. *The Nautilus* 107: 76-78.
- Kleinschuster, S. J. y J. Parent. 1995. Sub-clinical infection of oysters (*Crassostrea virginica*) (Gmelin 1791) from Maine by species of the genus *Perkinsus* (Apicomplexa). *Journal of Shellfish Research* 14: 489-491.
- La Peyre, J. F., M. Faisal y E. M. Burreson. 1994. In vitro propagation of protozoan *Perkinsus marinum*, a pathogen of the eastern oysters, *Crassostrea virginica*. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 40: 304-310.
- Lee, J. J. Hunter, H. S. y Bovee, C. E. Edit. 1985. An Illustrated Guide To the Protozoa. Society of Protozoologists. Lawrence Kansas. U. S. A. 629 p.
- Levine, N.D., 1978. *Perkinsus* gen. n. And other taxa in the protozoanphylum Apicomplexa. *Journal Parasitology*. 65: 549.
- Mackin, J.G., H.M. Owen, y A. Collier, 1950. Preliminary note on the ocurrence of a new protistan parasite. *Dermocystidium marinum* n. sp. in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791). *Science* 111: 328-329.
- Mackin, J.G., 1962. Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana. *Publicationes Institute of Marine Scienses. Univ Texas* 7: 132-229.

- Mackin, J.G., S.M. y Ray, 1966. The taxonomic relationship of *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier. *Journal Invertebrate Pathology*. 8: 544-545.
- Meyers, J. A., E. M. Burreson, B. J. Barber y R. Mann. 1991. Susceptibility of diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), to *Perkinsus marinus*. *Journal of Shellfish Research* 10 (2): 433-437.
- Moss, S.T., 1991. Thraustochytrids and other zoospore marine fungi. In: D.J. Patterson and J. Larsen (eds.). *The Biology of Free-Living Heterotrophic Flagellates. The Systematics Association Species*. Vol. No 45 Clarendon Press. Oxford Pp 415-426.
- Ogle, J. y K. Flurry, 1980. Occurrence and seasonality of *Perkinsus marinus* (Protozoa: Apicomplexa) in Mississippi oysters. *Gulf Research Reporter*. 6: 423-425.
- Olive, L.S., 1975. *The Mycetozoans*. Academic Press, New York. Pp 215-241.
- Paynter, K. T., S. K. Pierce y E. M. Burreson. 1995. Level of intracellular free amino acids used for salinity tolerance by oysters (*Crassostrea virginica*) are altered by protozoan (*Perkinsus marinus*) parasitism. *Marine Biology* 122: 67-72.
- Perkins, T. O., y Menzel, R. W. 1966. Morphological and cultural studies of previously unreported stage in the life cycle of *Dermocystidium marinum*. *Proceedings Natural Shell Fisheries Associations*, 56: 23-30.
- Perkins, F.O., 1973. A new species of marine labyrinthulid *Labyrinthuloides yorkensis* gen. et spec. nov.- cytology and fine structure. *Archive Microbiol*, 90:1-17
- Perkins, F.O., 1974. Phylogenetic considerations of the problematic thraustochytriaceo-labyrinthulid- *Dermocystidium complex* base on observations of fine structure. Veroeff. Institute Meeresforsch, Bremerhaven 5 (Supplement): 45-63
- Porter, D. 1990. Phylum Labyrinthulomycota. In: L. Margulis, J.O. Corlis, M. Melkonian & D.J. Chapman (eds.) *Handbook of Protozoa*. Jones and Barlett Publications. Boston, Massachusetts. Pp 388-398.
- Ray, S.M., 1952. Aculture technique for the diagnosis of infection with *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier in oysters. *Science* 116: 360-361.
- Ray, S.M., J.G. Mackin y J.L. Boswell. 1953. Quantitative measurement of the effect on oysters of diseases caused by *Dermocystidium marinum*. *Bulletin of Marine Sciences of the Gulf Caribbean* 3:6-33
- Ray, S.M., 1954. Experimental studies on the transmission and pathogenicity of *Dermocystidium marinum*, a fungus parasite of oysters. *Journal Parasitology*. (140): 2-235.
- Sevilla, M.L. y E.C. Mondragón, 1965. Desarrollo gonádico de *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas Pesqueras*. 1: 53-69.
- Sindermann, C. J., 1990. *Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish*. Second Edition, Vol. 2. Academic Press, Inc. San Diego. 516 p.