



Proyecto No. 00089333: “Aumentar las Capacidades Nacionales para el Manejo de las Especies Exóticas Invasoras (EEI) a través de la Implementación de la Estrategia Nacional de EEI”

“Servicio de consultoría para evaluar la situación actual del ostión japonés en la zona marina de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno”

**CONFIRMACIÓN DE LA IDENTIDAD DE LOS EJEMPLARES DE OSTIÓN JAPONÉS
RECOLECTADOS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA EL VIZCAÍNO Y REVISIÓN DE SU ESTADO
REPRODUCTIVO**



Fuente: Fotografía tomada por Manuel Olán, 2018.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR

Junio de 2019

“Las opiniones, análisis y recomendaciones de política incluidas en este informe no reflejan necesariamente el punto de vista del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, como tampoco de su junta ejecutiva ni de sus estados miembros.”



Título: Confirmación de la identidad de los ejemplares de ostión japonés recolectados en la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno y revisión de su estado reproductivo.

Objetivo: Emplear herramientas morfológicas y moleculares para determinar taxonómicamente la identidad de los ejemplares de ostión encontrados en vida libre fuera de las zonas de cultivo autorizadas y analizar sus características reproductivas.

Autores: Héctor Reyes Bonilla, Eduardo Balart Paez y Miguel Angel Ojeda Ruiz de la Peña

Colaboradores: Dr. Fco. Omar López Fuerte, M.C. Saúl González R., Dra. Gabriela Cruz P.

Apoyo de campo: M.C. Manuel Alejandro Olán González, Biol. Mar. Diego Gijón Díaz

Modo de citar: PNUD México (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). 2019. Confirmación de la identidad de los ejemplares de ostión japonés recolectados en la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno y revisión de su estado reproductivo. Servicio de consultoría para evaluar la situación actual del ostión japonés en la zona marina de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno. Proyecto GEF 00089333 “Aumentar las Capacidades Nacionales para el Manejo de las Especies Exóticas Invasoras (EEI) a través de la Implementación de la Estrategia Nacional de EEI”. Reyes Bonilla, H., E. Balart Paez & M. A. Ojeda Ruiz de la Peña. Laboratorio de Sistemas Arrecifales, UABCS, La Paz, Baja California Sur, México. 18 pp.

Área geográfica objeto del informe: Reserva de la Biosfera El Vizcaíno.

Fecha de inicio proyecto: 20 de agosto de 2018.

Fecha de terminación proyecto: 30 de junio de 2019.

Resumen: A partir de un análisis de las características morfológicas de la concha de 190 ejemplares, y de la revisión de ~700 pares de bases del gen de la *Citocromo c oxidasa subunidad I* (COI) obtenidos de 109 organismos recolectados en la Laguna Ojo de Liebre, que forma parte de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno, se demostró la presencia en vida libre de individuos de la especie *Crassostrea gigas*, conocida como ostión japonés, en 10 de 11 sitios visitados. Por otra parte, el estudio histológico de los mismos 19 especímenes confirmó la presencia de gónadas activas en todos ellos (observación que implica que los organismos son diploides), y en distintos estadios de madurez, incluyendo el desove. Estos hallazgos demuestran que el ostión japonés, especie que fue introducida a la Reserva hace unas tres décadas por motivos comerciales, en la actualidad puede ser considerada como una población exótica invasora en la localidad.

Vínculo con la Estrategia Nacional sobre Especies Invasoras: Se plantea la generación de información para conocer la situación actual del ostión japonés en un Área Natural Protegida de relevancia ecológica y económica. Se busca contar con un mejor monitoreo y control de las actividades de acuicultura y consecuentemente preservar en paralelo la salud del ecosistema. El proyecto se vincula con el Objetivo Estratégico 1: “Prevenir, detectar y

reducir el riesgo de introducción, establecimiento y dispersión de especies invasoras”; Metas: 1.2, “Información científica y técnica, relevante, oportuna y accesible, que genere capacidades en diversos sectores para atender las prioridades relacionadas con las especies invasoras”; y 1.7, “Medidas de bioseguridad y sanitarias instrumentadas permanentemente en la introducción, manejo y uso de especies exóticas invasoras”.

CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN.....	5
2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	6
3 METODOLOGÍA	6
3.1 Análisis morfológico y genético	6
3.2 Análisis histológico.....	8
4 RESULTADOS.....	8
4.1 Análisis morfológico y genético	8
4.2 Análisis histológico.....	11
5 REFERENCIAS.....	17

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de ejemplares de ostión analizados desde la perspectiva genética	11
Tabla 2. Clasificación individual de los estadios reproductivos de los ostiones japoneses muestreados.	12

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Especímenes de Ostión japonés (<i>Crassostrea gigas</i>).	9
Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de la PCR de 19 individuos de <i>C. gigas</i>	10
Figura 3. Corte histológico de ostión japonés en estadio indiferenciado.....	13
Figura 4. Corte histológico de ostión japonés hembra en DESARROLLO.....	13
Figura 5. Corte histológico de ostión japonés hembra en DESOVE.	14
Figura 6. Corte histológico de ostión japonés hembra en POSTDESOVE:.....	14
Figura 7. Corte histológico de ostión japonés macho en MADUREZ.	15
Figura 8. Corte histológico de ostión japonés macho en DESOVE.....	15
Figura 9. Corte histológico de ostión japonés macho en POSTDESOVE	16

1 INTRODUCCIÓN

El ostión japonés (*Crassostrea gigas*) es un molusco originario del noroeste del Océano Pacífico, y que gracias a su tolerancia fisiológica y su elevada tasa de crecimiento, se ha convertido en una de las principales especies de cultivo en el planeta (Nell, 2001; Buestel *et al.*, 2009). La especie fue introducida de manera oficial en los 1970s en México, y se ha vuelto un producto clave de consumo local pero también de exportación (Chávez-Villalba, 2014).

Una de las principales características provechosas de *C. gigas* para cultivo, es su elevada tasa reproductiva; su fecundidad puede ser de hasta 140 millones de huevos en ejemplares de solo 11 gramos de peso (Royer *et al.*, 2008). La reproducción en la especie está ligada a la temperatura y concentración de nutrientes, comenzando esta a fines de invierno y continuando en primavera para desovar en una temporada muy corta (menos de un mes) a inicios del verano y con temperaturas ideales de entre 20° y 24° C (Ren *et al.*, 2003), condiciones que también se han observado en México (Chávez-Villalba *et al.*, 2007). Esa misma elevada fecundidad puede estar ligada a otra propiedad importante de la especie, que es su relativa facilidad para hibridizarse en laboratorio con especies de su mismo género, incluyendo a *C. hongkongensis* (Zhang *et al.*, 2017), *C. angulata* (Soletchnik *et al.*, 2002) y *C. sikamea* (Camara *et al.*, 2008), este último, un bivalvo que también ha sido introducido en México para su cultivo (Coan & Valentich-Scott, 2012; Naranjo-García & Castillo-Rodríguez, 2017). Si bien los híbridos se logran e incluso llegan a vivir más de un año, los resultados de dichos experimentos demuestran que estos son infértiles, y por ello se sugiere que las barreras para la recombinación siguen existiendo y son a nivel postcigótico.

Dada su propensión a la hibridación y al hecho que *C. gigas* es un molusco muy agresivo y que coloniza rápidamente fondos duros (hecho que la ha convertido en una de las especies invasoras más preocupantes en el mundo; Zhang *et al.*, 2012; Herbert *et al.*, 2016), se han hecho esfuerzos para evitar su reproducción local y para ello se ha empleado principalmente el método de la inducción a la triploidía cromosómica, condición que evita la fecundación exitosa (Nell, 2002). Este procedimiento se lleva a cabo en laboratorio, donde se logra empleando diversos tratamientos que incluyen químicos para perturbar el proceso de meiosis (Downing & Allen, 1987; shocks térmicos (Quillet & Panelay, 1986), o por combinación de gametos tetraploides con diploides (Guo *et al.*, 1996). Los laboratorios que producen la semilla de ostión japonés en México emplean esta metodología (Chávez-Villalba, 2014), y se presume que de esta manera el peligro de una colonización indeseada del ostión japonés al medio natural se ve controlada.

No obstante lo anterior, se ha ido acumulando evidencia indirecta que al menos en la Laguna Ojo de Liebre, dentro de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno (REBIVI) en Baja California Sur, se presentan pequeñas “poblaciones” de *C. gigas* creciendo sobre sustratos duros. En dicha ANP el cultivo de ostión está permitido por el Programa de Manejo del ANP (INE, 2000), y por ese motivo hay preocupación sobre los posibles impactos de una invasión, lo cual podría generar impactos ecológicos negativos (Tovar-Hernández et al., 2014; Naranjo-García & Castillo-Rodríguez, 2017).

Lo anterior pone en evidencia la necesidad de conocer la situación actual del ostión japonés en la REBIVI, con respecto a la confirmación de la existencia de poblaciones libres en el medio, y la detección de su potencial reproducción fuera de los sitios autorizados para su cultivo. La generación de dicho conocimiento permitirá proponer acciones adecuadas para su manejo, dando las pautas para hacer frente al dilema de que surge entre los beneficios que produce su cultivo y los posibles daños que podría causar su establecimiento y proliferación en la Reserva.

2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificar morfológica y genéticamente, los ejemplares de ostión recolectados en la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno, para confirmar taxonómicamente su identidad y ocurrencia en vida libre.
- Efectuar análisis histológicos para determinar la capacidad reproductiva de los organismos recolectados.

3 METODOLOGÍA

3.1 Análisis morfológico y genético

A pesar de que se tenía planeado recolectar únicamente especímenes pertenecientes a la especie *C. gigas* en la zona de estudio, la dificultad para su identificación en el campo no lo permitió; por ello, para estar seguros que los organismos vistos en vida libre pertenecían a la especie de interés, se colectaron un total de 240 ejemplares de manera manual con la ayuda de un martillo y un cincel para separarlos del sustrato. Los individuos se colocaron en bolsas de plástico previamente etiquetadas con los datos de colecta (sitio, día, hora, georreferencia) y fueron transportados en una hielera para su conservación hasta el laboratorio de Sistemas Arrecifales de la UABCS para su procesamiento.

Con los organismos colectados, se realizó una primera determinación taxonómica a partir de los trabajos de Keen (1971) y Coan & Valentich-Scott (2012); sin embargo, debido al hacinamiento en que se encontraban, muchos tenían formas de crecimiento que impedían detectar los caracteres definitorios para identificarlos como *C. gigas*. A partir de este primer filtro, se eligieron 25 organismos que cumplían los criterios taxonómicos suficientes para ser calificados como ostión japonés, y se tomaron fotografías de la parte superior e interna de las valvas. Los registros fotográficos de los individuos se enviaron al Dr. Paul Valentich Scott del Museo de Historia Natural de Santa Bárbara (Estados Unidos), uno de los principales especialistas mundiales en taxonomía de bivalvos del Pacífico oriental, a quien se le solicitó su apoyo para confirmar taxonómicamente la identidad de los organismos. El investigador indicó que 19 de esos 25 especímenes podían ser positivamente considerados como representativos de la especie de interés.

Para la revisión de identidad molecular se analizaron en total 109 especímenes. Se incluyeron los citados 19 especímenes que en la revisión morfológica fueron identificados como miembros de la especie *C. gigas*, junto a un segundo grupo de otros 90, compuesto por 40 individuos extraídos de ocho de los nueve sitios visitados originalmente en el proyecto (cabe indicar que en el punto revisado en la parte más interna de la laguna, llamado La Choyita, no se recolectaron ostiones), y por 50 recolectados en mayo de 2019 en dos puntos más, relativamente cercanos a la boca de la Laguna Ojo de Liebre: La Lagunita (27.769674° N, -114.175781° W) que es un sitio rocoso submareal que representa la parte norte de un pequeño islote; y La Concha (27.820831° N, -114.240098° W) que es un bajo con abundantes conchas de bivalvos en el fondo, situado a unos 800 metros al suroeste de otra pequeña isla arenosa sin nombre.

Los 109 organismos fueron enviados al laboratorio del Dr. Adrián Munguía Vega (investigador adscrito a la Universidad de Arizona), para realizar la identificación genética del material. Para ello se realizó la extracción de ADN genómico de las muestras de ostión con el DNeasy blood and tissue Kit (QIAGEN). A partir del ADN mitocondrial obtenido se amplificaron ~700 pares de bases del gen *Citocromo c oxidasa sub-unidad I* (COI) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando los cebadores LCO1490 y HCO2198, siguiendo los protocolos descritos previamente (Folmer *et al.*, 1994). Los productos de la PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1.2% teñidos con RedGel (BIOTIUM), purificados y secuenciados en ambas direcciones (forward y reverse) en un secuenciador ABI 3730XL sequencer (Applied Biosystems) en el Centro de Genética de la Universidad de Arizona (UAGC). Las secuencias resultantes fueron editadas con el programa en línea BENCHLING (<https://benchling.com>). Se realizó un alineamiento múltiple de todas

las secuencias con el algoritmo CLUSTAL W en el programa MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016), donde se verificó que las secuencias obtenidas codificaran la proteína COI completa sin interrupciones, y se recortaron las secuencias de los cebadores. Los cebadores utilizados en el análisis han sido empleados exitosamente en publicaciones previas para la amplificación y secuenciación del COI de ostiones pertenecientes a los géneros *Crassostrea* y *Ostrea*.

La identificación genética a nivel de especie se realizó con base en la secuencia más parecida (> 99% de identidad) presente en dos bases de datos distintas: 1) mediante el algoritmo MegaBlast que compara las secuencias depositadas en la base de datos de GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), y 2) con las secuencias de código de barras a nivel de especie (species level barcode records) en la base de datos del código de barras de la vida (BOLD, <http://www.barcodinglife.org>).

3.2 Análisis histológico

Antes de enviar el material para la determinación genética, se tomaron muestras para llevar a cabo el diagnóstico histológico de los estadios de las gónadas de los mismos 19 ejemplares de ostión japonés (*C. gigas*) revisados morfológica y genéticamente. Para este fin, los ostiones fueron disectados y se cortaron transversalmente a la altura media de la glándula digestiva. Posteriormente, el tejido reproductivo fue fijado con formol al 10% y se procesó por inclusiones en parafina. Se realizaron cortes a 5 micrómetros de grosor y se tiñeron con hematoxilina de Gill – Eosina.

4 RESULTADOS

4.1 Análisis morfológico y genético

Los 19 individuos que fueron determinados mediante análisis morfológicos como *C. gigas* por el grupo de trabajo y cuya identificación fue confirmada por el experto del Museo de Historia Natural de Santa Barbara, presentaban las siguientes características morfológicas que se muestran en las figuras 1a, b, c, d: 1) una concha sólida, inequivalva, rugosa, aflautada y laminada; 2) la valva izquierda (inferior) era profundamente cóncava con lados algunas veces casi verticales; 3) la valva derecha (superior) era plana y/o ligeramente convexa, apoyándose dentro de la izquierda; 4) los lados eran desiguales, con picos y umbos relativamente protuberantes, tendiendo a ser oblongas pero muy distorsionadas e irregulares, salvo en aquellas que se encontraban incrustadas en el sustrato rocoso, por lo que la forma de la concha fue variable según el sustrato en el que se encontraban; 5) el

color era blanquecino con estrías transversales moradas y puntos que radiaban del umbo; y 6) el interior de la concha era blanco, con un solo músculo.

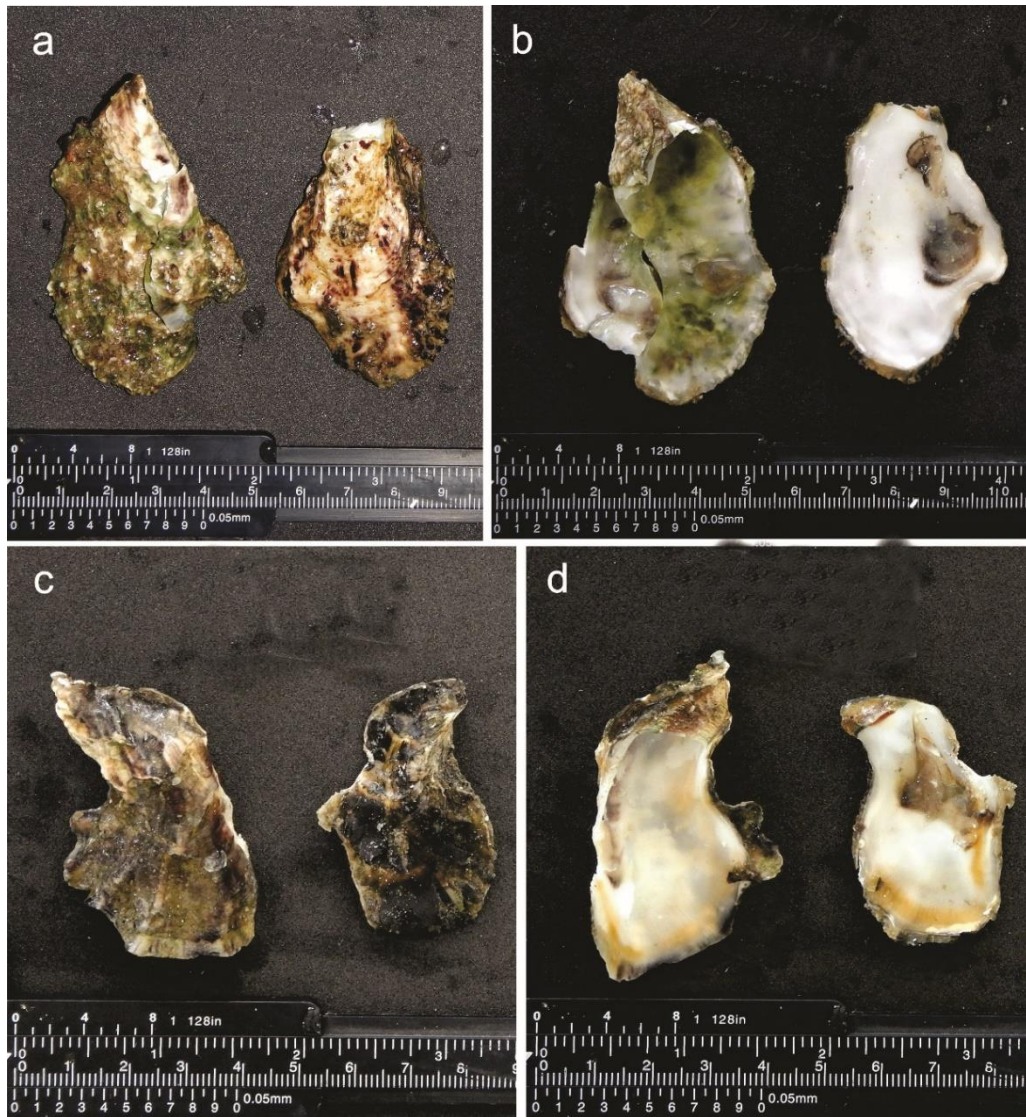


Figura 1. Especímenes de Ostión japonés (*Crassostrea gigas*). 1a, c. Vista externa. 1b, d. vista interna. *Elaboró: UABCS/ F. O. López-Fuerte, 2018.*

Las imágenes mostradas en la Figura 1 son un ejemplo de las que fueron enviadas al Dr. Paul Valentich Scott para recibir su opinión sobre la identidad de los especímenes. El investigador en cuestión corroboró que al menos 19 ejemplares de los 25 fotografiados cumplían con todos los caracteres diagnósticos para ser considerados como representativos de la especie *C. gigas*; el resto de las imágenes de las conchas (6 especímenes) no contó con la calidad o definición para que la respuesta fuera definitiva. A pesar de la dificultad, el análisis de la forma de las conchas de los animales que se encontraban en vida libre dentro

de la Laguna Ojo de Liebre, demuestra que la especie *C. gigas* han sido capaz de colonizar sustratos naturales y artificiales dentro de la REBIVI.

Por otra parte, los resultados de la amplificación mediante PCR a partir del ADN genómico extraído de las 109 muestras de ostión japonés (Figura 2), evidenciaron que 95 de ellas (el 87%) correspondieron a la especie *C. gigas*; de acuerdo con las secuencias obtenidas del gen mitocondrial *citocromo c oxidasa subunidad I* (COI), mostrando homología > 97% comparando con secuencias de esta especie disponibles en las bases de datos GenBank y Barcode of Life Database (BOLD).

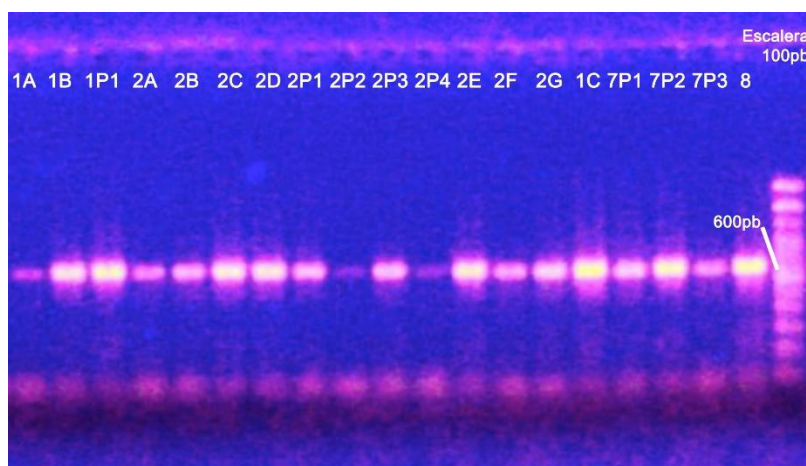


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de la PCR de 19 individuos de *C. gigas*. Elaboró: UABCS/ Adrián Munguía-Vega, 2019.

El resto de los ejemplares (14 en total; 13%) fueron identificados como pertenecientes a la especie de ostión nativo *Saccostrea palmula* (Carpenter, 1857), de la misma familia que *C. gigas*, y residente del Pacífico oriental. Según Coan & Valentich-Scott (2012) su zona de ocurrencia está entre la Laguna San Ignacio, Baja California Sur, México (26.8° N) y Piura, Perú (5.9° S). La especie también habita prácticamente en todo el Golfo de California, desde la boca hasta el Estero La Choya, Sonora (31.3° N). Su longitud máxima registrada es de 75 mm de largo, y puede ocupar fondos rocosos o adherirse a raíces de mangle. El hallazgo de estos ejemplares representa un pequeño aumento de rango geográfico para la especie hasta la latitud 27°N, quizá favorecido por el aumento de temperatura que ha sido denotado en la región oeste de la Península de Baja California (Boch *et al.*, 2018). La localización de los ejemplares genéticamente confirmados de las dos especies en los sitios de muestreo, se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Número de ejemplares de ostión analizados desde la perspectiva genética. Los sitios de recolecta están organizados de norte a sur. El asterisco indica sitios donde solo se muestrearon ejemplares con morfología “típica” de *C. gigas* para el análisis genético.

Sitio	Ejemplares de <i>C. gigas</i>	Ejemplares de <i>S. palmula</i>	N
1. Espinazo del Diablo	4	0 (*)	4
2. Bordo Exportadora de Sal	9	0 (*)	9
3. Paradero Beatriz	11	0	11
4. Puerto El Chaparrito	11	1	12
5. Campo Don Nicho	7	2	9
6. La Concha	22	3	25
7. La Lagunita	19	6	25
8. El Alambre	6	2	8
9. La Piedra	3	0 (*)	3
10. Los Paredones	3	0 (*)	3
Total	95	14	109

Finalmente, los pescadores nos indicaron que había tres lugares más con presencia de ostión, los cuales, por cuestiones logísticas no fueron visitados: Carros Viejos-La Ventana (sitio con fondo predominantemente arenoso, pero con presencia de rocas llamadas “cantera”; posición aproximada a partir de señalamientos en el mapa: 27.812° N, -114.303° W), El Conchalito (bajo con presencia de abundantes concentraciones de conchas de moluscos; 27.805° N, -114.268° W) y Las Aguilas (sitio con fondo rocoso situado en 27.732° N, -114.158° W).

La evidencia genética confirma los resultados obtenidos en el estudio morfológico, y apunta a que el ostión japonés ha sido capaz de ocupar al menos 10 sitios dentro de la Reserva (de 11 muestreados), incluyendo algunos en condiciones naturales y otros de origen antropogénico.

4.2 Análisis histológico

La tabla 2 muestra una clasificación de manera individual de los estadios reproductivos de cada ostión para su análisis. De los 19 ejemplares de ostión japonés analizados, ocho resultaron indiferenciados (esta condición podría deberse a que los organismos se reprodujeron previamente habiendo desovado semanas o meses antes, o porque no han entrado a reproducción activa al ser juveniles), siete hembras (de las cuales una se encontró

en desarrollo, cuatro en desove y dos en postdesove), y cuatro machos (de los cuales uno era maduro, uno estaba en desove, y dos en postdesove).

Tabla 2. Clasificación individual de los estadios reproductivos de los ostiones japoneses muestreados.

Número de ejemplar	Clave	Sexo	Estadio
1	GN 1B	H	Desarrollo
2	GN 8	M	Madurez
3	GN 2F	I	Indiferenciado
4	GN 7P3	H	Desove
5	GN 2G	H	Desove
6	GN 7P1	H	Desove
7	GN 2P1	I	Indiferenciado
8	GN 1P1	I	Indiferenciado
9	GN 2P3	I	Indiferenciado
10	GN 2D	M	Postdesove
11	GN 1A	H	Desove
12	GN 7P2	H	Postdesove
13	GN 2E	M	Postdesove
14	GN 2A	I	Indiferenciado
15	GN 2P4	I	Indiferenciado
16	GN P2	I	Indiferenciado
17	GN 2C	M	Desove
18	GN 2B	H	Postdesove
19	GN 1C	I	Indiferenciado

A continuación se presenta una serie de muestras (figuras 3-9) donde se observan cortes histológicos del tejido reproductivo de los ejemplares de *C. gigas*, así como una breve descripción de los diferentes estadios de madurez en cada muestra.

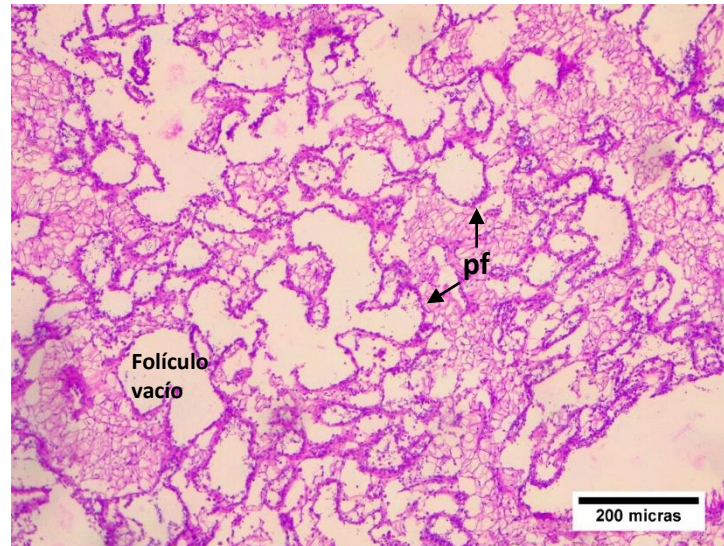


Figura 3. Corte histológico de ostión japonés en estadio indiferenciado: Folículos con paredes muy delgadas, sin gametos en formación ni material reproductivo residual en su interior. En algunas partes de la gónada las paredes de los folículos se encuentran rotas. Paredes foliculares (pf). *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2018*

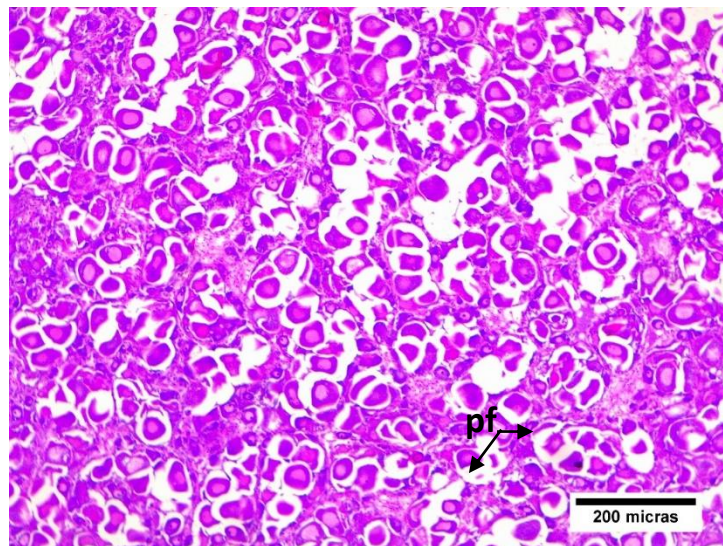


Figura 4. Corte histológico de ostión japonés hembra en DESARROLLO: Paredes foliculares (pf) completas, y folículos con llenado parcial de ovocitos. No se observan folículos rotos. *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2019.*

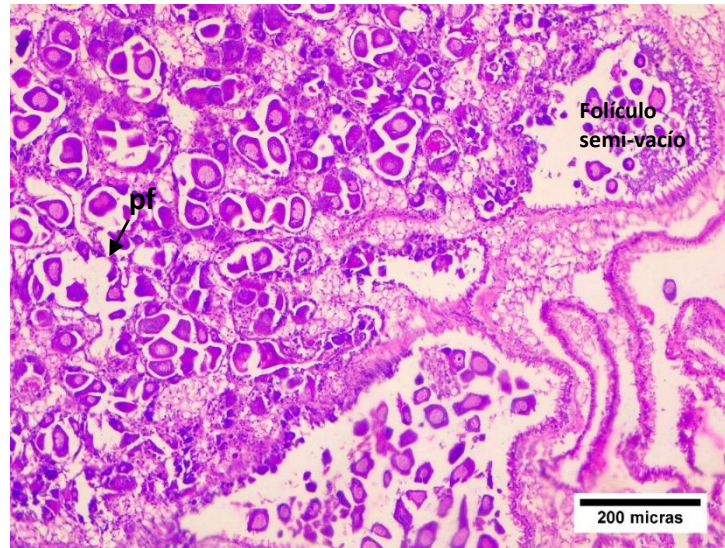


Figura 5. Corte histológico de ostión japonés hembra en DESOVE: Los folículos comienzan a vaciarse de gametos, y las paredes foliculares (pf) aparecen rotas. Los ovocitos son muy grandes y aparecen en abundancia. *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2019.*

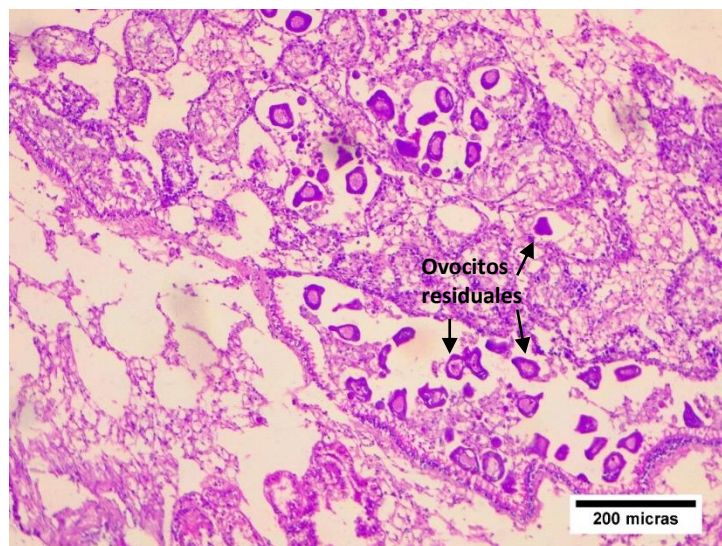


Figura 6. Corte histológico de ostión japonés hembra en POSTDESOVE: Folículos semivacíos luego de haber liberado los gametos, y se observan ovocitos residuales en la luz del folículo. Las paredes de los folículos son delgadas y están rotas debido a los ovocitos en expulsión. *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2019.*

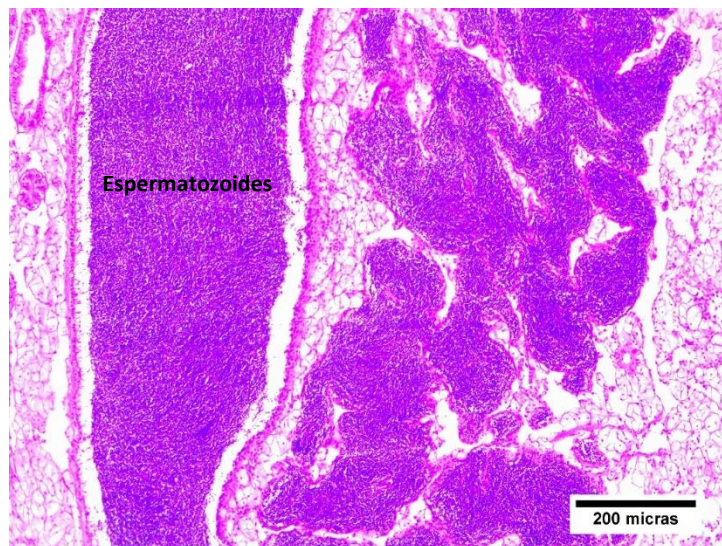


Figura 7. Corte histológico de ostión japonés macho en MADUREZ: Espermatozoides libres en el interior de los folículos. *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2019.*

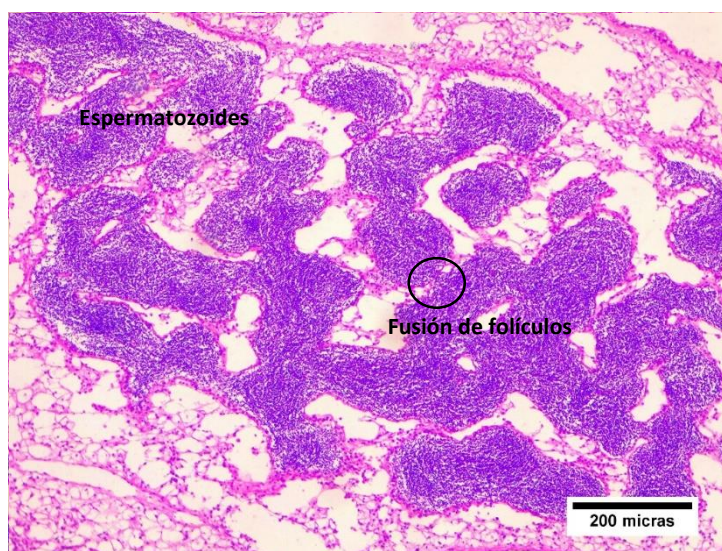


Figura 8. Corte histológico de ostión japonés macho en DESOVE: Folículos fusionados formando una estructura llena de espermatozoides cubriendo toda la luz. *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2019.*

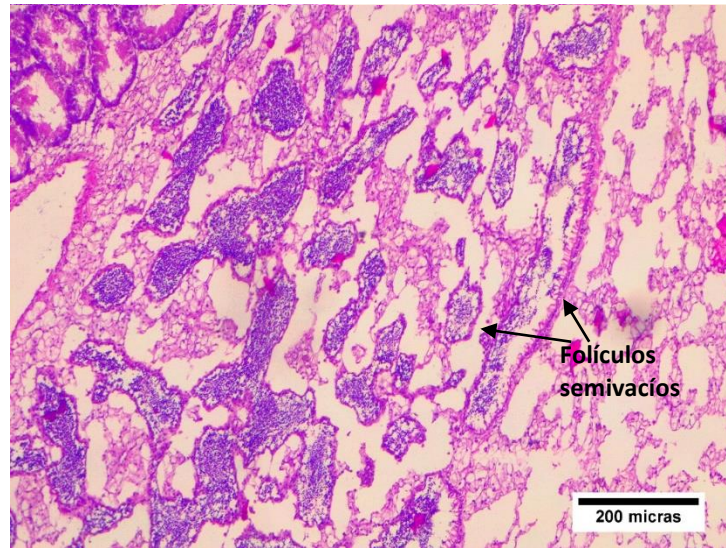


Figura 9. Corte histológico de ostión japonés macho en POSTDESOVE: Folículos semivacíos, con espermatozoides en la luz. Las paredes de los folículos delgadas y rotas. *Elaboró: UABCS/ Carlos A. Aguilar-Cruz, 2019.*

Como se pudo observar, el 58% de los ejemplares estudiados estuvieron activos reproductivamente, y prácticamente todos ellos estaban maduros, listos para el desove, o ya habían desovado. Se observaron ambos sexos en todas las etapas reproductivas, lo que indica que son organismos dióicos y diploides, que se comportan como en una población natural. Lo anterior sugiere que los ejemplares de vida libre de ostión japonés en Ojo de Liebre, dentro de la REBIVI, son reproductivamente aptos; de ahí que si las larvas son capaces de localizar sitios donde establecerse, estarían siendo el primordio de una nueva generación de ostiones con capacidad de automantenerse en la localidad. Debido a lo anterior, los ejemplares de ostión japonés encontrados en la zona de estudio por ende deben ser considerados como una especie invasora exitosa que está en visos de posible establecimiento. En este momento no hay evidencia de que la conformación de esta nueva población haya tenido afectaciones sobre especies nativas de la laguna, sin embargo, es esencial comenzar un programa para extirpar los ejemplares que actualmente habitan la zona, y además para prevenir futuros reclutamientos, ya que la capacidad invasiva de esta especie es notablemente alta, como ha sido demostrado en otras partes del mundo (Herbert *et al.*, 2016).

5 REFERENCIAS

- Buestel, D., Ropert, M., Prou, J., & Goulletquer, P.** 2009. History, status, and future of oyster culture in France. *Journal of Shellfish Research*, 28: 813-821.
- Camara M. D., Davis J. P., Sekino M., Hedgecock D., Li G., Langdon C. J. & Evans A. S.** 2008. The Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* is neither rare nor threatened by hybridization in the Northern Ariake sea, Japan. *Journal of Shellfish Research*, 27: 31-322.
- Chávez-Villalba, J.** 2014. Cultivo de ostión *Crassostrea gigas*: Análisis de 40 años de actividades en México. *Hidrobiológica*, 24: 175-190.
- Chávez-Villalba, J., Villelas-Ávila, R., & Cáceres-Martínez, C.** 2007. Reproduction, condition and mortality of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Sonora, México. *Aquaculture Research*, 38: 268-278.
- Coan, E. C. & Valentich Scott, P.** 2012. Bivalve seashells of tropical west America: Marine bivalve mollusks from Baja California to Northern Peru. Santa Barbara Museum of Natural History. Santa Barbara.
- Downing, S. L., & Allen Jr, S. K.** 1987. Induced triploidy in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*: optimal treatments with cytochalasin B depend on temperature *Aquaculture*, 61: 1-15.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek.** 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3:294-299.
- Guo, X., DeBrosse, G. A., & Allen Jr, S. K.** 1996. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture*, 42: 149-161.
- Herbert, R. J., Humphreys, J., Davies, C. J., Roberts, C., Fletcher, S., & Crowe, T. P.** 2016. Ecological impacts of non-native Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) and management measures for protected areas in Europe. *Biodiversity & Conservation*. 25: 2835-2865.
- Instituto Nacional de Ecología (INE).** 2000. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno. México, D.F. 242 p.
- Keen, A. M.** 1971. Sea shells of tropical west America; marine mollusks from Baja California to Peru. 2nd ed. Stanford University Press.; 1064 pp., 22 pls.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K.** 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870-1874.
- Liu, J. U. N., Li, Q. I., Kong, L., Yu, H., & Zheng, X.** 2011. Identifying the true oysters (Bivalvia: Ostreidae) with mitochondrial phylogeny and distance-based DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 11: 820-830.

- Naranjo-García, E., & Castillo-Rodríguez, Z. G.** 2017. First inventory of the introduced and invasive mollusks in Mexico. *The Nautilus*, 131: 107-126.
- Nell, J. A.** 2001. The history of oyster farming in Australia. *Marine Fisheries Review*, 63: 14-25.
- Nell, J. A.** 2002. Farming triploid oysters. *Aquaculture*, 210: 69-88.
- Quillet, E., & Panelay, P. J.** 1986. Triploidy induction by thermal shocks in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 57: 271-279.
- Ren, J. S., Marsden, I. D., Ross, A. H., & Schiel, D. R.** 2003. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 37: 171-182.
- Royer, J., Seguineau, C., Park, K. I., Pouvreau, S., Choi, K. S., & Costil, K.** 2008. Gametogenetic cycle and reproductive effort assessed by two methods in 3 age classes of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, reared in Normandy. *Aquaculture*, 277: 313-320.
- Soletchnik, P., Huvet, A., Le Moine, O., Razet, D., Geairon, P., Faury, N., Goulletquer, P. & Boudry, P.** 2002. A comparative field study of growth, survival and reproduction of *Crassostrea gigas*, *C. angulata* and their hybrids. *Aquatic Living Resources*, 15: 243-250.
- Tovar-Hernández, M. A., Yáñez-Rivera, B., Villalobos-Guerrero, T. F., Aguilar-Camacho, J. M. & Ramírez-Santana, I. D.** 2014. Invertebrados marinos exóticos en el Golfo de California. In: Low Pfeng, A., Quijón, P. A. & Peters Recagno, E. M. (eds.). *Especies invasoras acuáticas: Casos de estudio en ecosistemas de México*. SEMARNAT, INECC, Prince Edward Island, México. 381-410 p. ISBN: 978-1-304-90189-7
- Zhang, Y., Wang, Z., Yan, X., Yu, R., Kong, J., Liu, J., & Guo, X.** 2012. Laboratory hybridization between two oysters: *Crassostrea gigas* and *Crassostrea hongkongensis*. *Journal of Shellfish Research*, 31: 619-625.