

Evaluación de dos tratamientos en la intensidad de gusanos poliquetos asociados a las valvas del ostión *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873)

Evaluation of two treatments in polychaete worm intensity associated with *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873) oyster valves

María del Carmen Gallo-García*
Manuel García-Ulloa-Gómez
Daniel Enrique Godínez-Siordia

Laboratorio de Ciencias Marinas
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guadalajara
Miguel López de Legaspi 235
Barra de Navidad, CP 48987, Jalisco, México
* E-mail: carmengallo@starmedia.com

Recibido en septiembre de 2003; aceptado en abril de 2004

Resumen

Se evaluó el efecto de baños de inmersión semanales en agua dulce y en una suspensión de hidróxido de calcio (cal hidratada) al 0.2%, sobre la intensidad de poliquetos tubícolas epibiontes del ostión *Crassostrea gigas*. Al inicio del estudio, 135 juveniles de ostión (2.75 ± 0.25 cm de longitud media y 4.33 ± 0.96 g de peso húmedo en promedio) fueron asignados aleatoriamente a tres grupos con tres repeticiones cada uno. Dos grupos recibieron tratamientos durante 10 minutos con cal y agua dulce, respectivamente, en tanto que un tercer grupo permaneció como testigo. Cada 15 días fue registrada la intensidad de los poliquetos en las valvas, así como la talla y el peso de los bivalvos. Semanalmente se obtuvo la supervivencia de los ostiones por tratamiento, y se midieron las condiciones físicas y químicas del agua en el lugar de cultivo. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la intensidad de poliquetos en los grupos tratados y el control. El tratamiento con cal registró los valores más bajos de tubos/ostión todos los días de muestreo y no presentó aumento en la intensidad durante los últimos 30 días del ensayo. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la supervivencia, talla, peso e índice de condición finales de los ostiones, entre los grupos, después de 112 días de estudio.

Palabras clave: gusanos poliquetos, intensidad, control de epibiontes, *Crassostrea gigas*.

Abstract

This study evaluates the effect of weekly immersion baths in fresh water and a 0.2% solution of calcium hydroxide (lime) on the intensity of fouling polychaete worms in *Crassostrea gigas* oysters. Initially, 135 juvenile oysters (with an average length of 2.75 ± 0.25 cm and a mean wet weight of 4.33 ± 0.96 g) were randomly assigned to three groups with three replicates each. Two groups were treated for 10 minutes with lime and fresh water, respectively, and a third group remained as control. Fouling polychaete intensity and the bivalve length and weight were obtained every 15 days. Every week oyster survival was registered for each treatment and water parameters were measured at the culture site. Significant differences ($P < 0.05$) in worm intensity were found between the two bath treatments and the control. The lime treatment showed the lowest intensity (number of mud tubes/oyster) in all the sampling days, with no increase in intensity during the last experimental month. There were no significant differences ($P > 0.05$) in final survival, final length, final weight and final condition index of the oysters among treatments after 112 days of study.

Key words: polychaete worms, intensity, epibiont control, *Crassostrea gigas*.

Introducción

Los gusanos poliquetos constituyen un extenso grupo de invertebrados ampliamente distribuido en la mayor parte de los ambientes béticos marinos del mundo (Fauchald, 1977; Salazar-Vallejo *et al.*, 1988). Existe una gran cantidad de

Introduction

Polychaete worms are a large group of invertebrates widely distributed in most marine benthic environments of the world (Fauchald, 1977; Salazar-Vallejo *et al.*, 1988). There are many families that exhibit a symbiotic, commensal or parasitic

familias que exhiben una interacción simbiótica, comensal o parásita con otros organismos acuáticos. Algunas especies de la familia Spionidae, principalmente del complejo *Polydora-Boccardia*, tienen la capacidad de formar tubos y perforar substratos de naturaleza calcárea como las conchas de algunos moluscos de importancia comercial (Martin y Britayev, 1998). El mayor problema causado por estos gusanos a la ostricultura mundial es la disminución del valor comercial en la presentación en media concha debido a la desagradable apariencia de las “ampollas de lodo” presentes en la superficie interna de las valvas (Blake, 1996). Cáceres-Martínez *et al.* (1998) y Chávez-Zazueta (2003) han reportado la presencia de gusanos barrenadores en la industria ostrícola mexicana.

Con el fin de reducir el impacto de estos gusanos y otros epibiontes en las unidades de producción de ostión, se ha propuesto la utilización de sistemas de cultivo intermareales para proporcionar períodos prolongados de exposición al sol y al aire a los animales (Bardach *et al.*, 1986; Quayle y Newkirk, 1989; Cáceres-Martínez *et al.*, 1998). Sin embargo, su manejo no es recomendable en zonas de clima cálido ya que la mortalidad aumenta significativamente debido al sobrecalentamiento de los ostiones (Quayle y Newkirk, 1989). Asimismo, han sido propuestos diversos tratamientos a base de productos químicos como el sulfato de cobre (CuSO_4) (Quayle y Newkirk, 1989), soluciones de cloro a 25 g mL^{-1} o formol al 2% (Robles-Mungaray y Salinas-Ordaz, 1993), y diptereno marino obtenidos de extractos de algas (Takikawa *et al.*, 1998). Aunque la aplicación de tales compuestos puede ser eficaz en el control de estos gusanos, algunos de esos productos tienen un costo elevado, son tóxicos y su empleo requiere de un manejo cuidadoso. Una solución alterna a esta problemática ha sido la utilización de soluciones hipo o hipertónicas como el agua dulce (Skeel, 1979; Velayudhan, 1983; Quayle y Newkirk, 1989), y el empleo de hidróxido de calcio Ca(OH)_2 , conocido comercialmente como cal hidratada, aplicados en baños de inmersión de corta duración (Larrea *et al.*, s/f, Robles-Mungaray y Salinas-Ordaz, 1993).

Desde 1996 el Laboratorio de Ciencias Marinas (LCM), de la Universidad Autónoma de Guadalajara, ha llevado a cabo algunos estudios con el ostión del Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873) en la laguna de Barra de Navidad, Jalisco (García-Ulloa *et al.*, 1998a, b; Gallo-García *et al.*, 2001), la cual se considera un cuerpo de agua con características semi-tropicales (Sandoval-Rojo, 1985). Desde los primeros estudios se notó la presencia de ampollas de lodo en la superficie interna de la concha de estos bivalvos, provocadas por especies tubícolas barrenadoras. Para controlar este problema se han estudiado varios sitios potenciales de cultivo dentro de la laguna (Chávez-Zazueta, 2003), mediante el empleo de un sistema de canastas flotantes, pero hasta la fecha no se ha tenido mucho éxito. Blake (1996) observó que los estadios juveniles de los perforadores se sitúan inicialmente en el exterior de la concha de los ostiones, y forman tubos de materia orgánica desde donde se alimentan y se protegen de otros organismos;

interaction with other aquatic organisms. Some species of the family Spionidae, primarily of the *Polydora-Boccardia* complex, have the ability to form tubes and perforate calcareous substrates like the shells of several commercially important molluscs (Martin and Britayev, 1998). The main problem caused by these worms to oyster culture worldwide is the reduced commercial value in the presentation on the half shell due to the disagreeable aspect of the “mud blisters” found on the internal surface of the valves (Blake, 1996). Cáceres-Martínez *et al.* (1998) and Chávez-Zazueta (2003) have reported the presence of shell-boring worms in the Mexican oyster culture industry.

To reduce the impact of these worms and other epibionts in oyster production units, the use of intertidal culture systems that expose the animals to sun and air for a prolonged period of time has been proposed (Bardach *et al.*, 1986; Quayle and Newkirk, 1989; Cáceres-Martínez *et al.*, 1998); however, this is not recommendable in hot climates because mortality increases significantly due to overheating of the oysters (Quayle and Newkirk, 1989). Other diverse treatments have also been proposed based on chemical products such as copper sulphate (CuSO_4) (Quayle and Newkirk, 1989), chlorine solutions at 25 g mL^{-1} or 2% formol (Robles-Mungaray and Salinas-Ordaz, 1993), and marine diptereno obtained from algal extracts (Takikawa *et al.*, 1998). Though the use of such compounds may be efficient in the control of these worms, some of these products are expensive, toxic and require careful handling. An alternative solution to this problem is the use of hypo- or hypertonic solutions, such as fresh water (Skeel, 1979; Velayudhan, 1983; Quayle and Newkirk, 1989), and of calcium hydroxide Ca(OH)_2 , known commercially as hydrated or slaked lime, applied in short immersion baths (Larrea *et al.*, undated; Robles-Mungaray and Salinas-Ordaz, 1993).

Since 1996, the Marine Science Laboratory (MSL) of the Autonomous University of Guadalajara has conducted studies on the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873) at Barra de Navidad Lagoon, Jalisco (García-Ulloa *et al.*, 1998a, b; Gallo-García *et al.*, 2001), considered a semitropical body of water (Sandoval-Rojo, 1985). The first studies revealed the occurrence of mud blisters on the internal surface of the shell. To control this problem, several potential culture sites within the lagoon have been studied (Chávez-Zazueta, 2003) using a system of floating baskets, without much success so far. Blake (1996) observed that the juvenile stages of boring worms initially occur on the outside of the oyster shells, forming tubes of organic matter used for feeding and protection against other organisms. In subsequent stages they acquire the ability to perforate the valve and, by means of chemical and physical mechanisms that have as yet not been well established, they form mud-covered tunnels that extend to the mantle cavity. The molluscs protect themselves from the worms by secreting nacre and isolating them within the so-called mud blisters, but the energy expended on this weakens their physiological condition, making them more susceptible to

en estadios posteriores, adquieren la capacidad de perforar la valva y, mediante mecanismos químicos y físicos aún no bien establecidos, forman túneles recubiertos con lodo que se extienden hasta alcanzar la cavidad del manto. Los moluscos se protegen de los gusanos secretando nácar y aislándolos dentro de las llamadas ampollas de lodo, pero el gasto de energía que esto implica debilita su condición fisiológica haciéndolos más susceptible a enfermedades y efectos adversos del ambiente. Bower *et al.* (1992) mencionan que, aunque los poliquetos barrenadores no fueron responsables directos del 84% de la mortalidad en cultivos experimentales de escalopas, la relación encontrada entre su presencia y la pobre supervivencia obtenida fue significativa. Debido a los daños que pudiera generar una infestación de estos organismos en cultivos futuros en la laguna de Barra de Navidad, el presente estudio fue realizado para contribuir en el control de la intensidad de poliquetos tubícolas externos y de los barrenadores, mediante la inmersión de los ostiones en baños de agua dulce y soluciones de hidróxido de calcio.

Metodología

Formación de grupos y manejo

El estudio se desarrolló durante 16 semanas (marzo a julio), utilizando las instalaciones del LCM como base operativa, y la laguna de Barra de Navidad, Jalisco (México), como sitio de cultivo. Al inicio del estudio el índice de condición de una muestra de los bivalvos ($n = 15$) fue determinado mediante la fórmula propuesta por Crosby y Gale (1990). Posteriormente, se dividieron aleatoriamente 135 juveniles de 2.75 ± 0.25 cm de longitud y un peso húmedo de 4.33 ± 0.96 g, en 3 grupos de 45 ostiones divididos en tres repeticiones (15 organismos por repetición). En cada grupo y repetición se registró la intensidad inicial de poliquetos, así como la longitud total y el peso húmedo de los moluscos. En el presente trabajo la intensidad fue medida como el número de tubos de materia orgánica presentes en la superficie de las valvas, de manera que éstos se consideraron como una referencia de la actividad de los gusanos. La longitud total de los moluscos fue medida con una regla convencional (Quayle y Newkirk, 1989) y el peso húmedo total fue medido con una báscula de precisión (Ohaus, EUA). Las réplicas se introdujeron por separado en sobres de malla mosquitera de 0.5 m^2 , mismos que fueron identificados con etiquetas plásticas de diferente color para cada tratamiento y con el número de la repetición correspondiente. Las repeticiones 1, 2 y 3 de cada grupo se mantuvieron en módulos independientes formados con canastas ostrícolas plásticas; dichos módulos fueron trasladados y suspendidos con cuerdas desde una plataforma flotante ubicada en la laguna. Mediante la utilización de peso muerto, el equipo fue mantenido a una profundidad aproximada de 1 ± 0.5 m por encima del fondo. Cada semana los módulos fueron transportados al laboratorio para la realización de las labores de limpieza, registrando la

illnesses and adverse environmental effects. Bower *et al.* (1992) mention that, although boring polychaetes were not directly responsible for 84% of the mortality in experimental scallop cultures, the relation between their presence and the poor survival obtained was significant. An infestation of these organisms could considerably damage future cultures at Barra de Navidad lagoon; hence, this study aims to contribute to the control of the intensity of external and boring polychaete worms by immersing the oysters in fresh-water baths and solutions of calcium hydroxide.

Methodology

Formation of groups and handling

This study was carried out during 16 weeks (March to July) using the MSL installations as base and Barra de Navidad Lagoon in Jalisco (Mexico) as culture site. The condition index of a sample of bivalves ($n = 15$) was determined by the formula proposed by Crosby and Gale (1990). Subsequently, 135 juveniles of 2.75 ± 0.25 cm in length and 4.33 ± 0.96 g wet weight were randomly divided into three groups of 45 oysters with three replicates each (15 organisms per replicate). Initial polychaete intensity, and total length and wet weight of the molluscs were recorded for each group and replicate. Intensity was measured as the number of organic matter tubes on the surface of the valves, considered a reference of worm activity. Total length was measured with a conventional ruler (Quayle and Newkirk, 1989) and total wet weight using a precision balance (Ohaus, USA). The replicates were placed separately in 0.5-m^2 mosquito mesh envelopes, which were identified with different-coloured plastic labels for each treatment and with the corresponding replicate number. Replicates 1, 2 and 3 of each group were kept in independent units of plastic oyster baskets; these units were suspended from ropes on a floating platform in the lagoon. Using dead weight, the equipment was maintained at an approximate depth of 1 ± 0.5 m from the bottom. Each week the units were transported to the laboratory for cleaning, and the survival per treatment and replicate was recorded. The intensity, total length and weight of all the population of each replicate and treatment were determined every 15 days, using the previously mentioned techniques.

Application of treatments

The immersion baths were prepared in independent recipients, one of them with 10 L of fresh water at room temperature and the other with 10 L of fresh water at room temperature and a 0.2% solution of calcium hydroxide (2 g L^{-1} of lime, Perla, Mexico). The immersion bath treatments were administered every 7 days, after the cleaning and biometric measurements. The three replicates of each treatment were introduced for 10 min into the respective recipients and then returned to the culture baskets.

supervivencia por tratamiento y repetición. Cada 15 días, se determinó la intensidad, la longitud total y el peso de toda la población de cada repetición y tratamiento, mediante las técnicas anteriormente mencionadas.

Aplicación de tratamientos

Los baños de inmersión se prepararon en recipientes independientes, uno de ellos con 10 L de agua dulce a temperatura ambiente, y el otro con 10 L de agua dulce a temperatura ambiente e hidróxido de calcio en suspensión al 0.2 % (2 g L⁻¹ de cal marca Perla, México). Los tratamientos fueron administrados cada 7 días mediante baños de inmersión posteriores a la realización de la limpieza o las biometrías. Las tres réplicas de cada tratamiento fueron introducidas durante 10 minutos en los respectivos recipientes para, posteriormente, devolverlas a las canastas de cultivo.

Parámetros ambientales y evaluación de tratamientos

Con la finalidad de llevar un registro de las condiciones ambientales en el lugar de cultivo, cada semana se midió la temperatura, la salinidad y el pH, al iniciar y finalizar el procedimiento de limpieza. Para tal fin se utilizó un termómetro de mercurio (Brannan, EUA, 76mm/1mm), un refractómetro compensado (Atago, Japón) y un potenciómetro digital portátil (Hach Chemical Company, Alemania), respectivamente.

Al finalizar el estudio se calculó el crecimiento diario con la fórmula propuesta por Coutteau *et al.* (1994) y el índice de condición de los grupos (Crosby y Gale, 1990).

Pruebas estadísticas

Los datos de intensidad de poliquetos por muestreo (expresados como el aumento del porcentaje de tubos en las valvas con relación al número inicial por tratamiento) se transformaron en arc sen $\sqrt{\%}$ para su evaluación (Reyes, 1982). Posteriormente, cuando se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos se aplicó un análisis de varianza simple y una prueba de rangos múltiples de Tukey.

La normalidad de los datos de crecimiento fue verificada mediante la Prueba de Kolmogorov-Smirnov, y su homocedasticidad mediante la de Levene. La talla y el peso se analizaron con la Prueba de Kruskal-Wallis de una vía, mientras que las comparaciones entre las medias se analizaron por medio del Método de Dunn. El índice de condición y la supervivencia fueron evaluados con un análisis de varianza de una vía (Sokal y Rohlf, 1969).

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el paquete estadístico Jandel Sigma Stata versión 2.0 (1992–1995, EUA), a una probabilidad de 95%.

Environmental parameters and treatment evaluation

To keep a record of the environmental conditions at the culture site, temperature, salinity and pH were measured weekly at the beginning and end of the cleaning process, using a mercury thermometer (Brannan, USA, 76 mm/1 mm), a compensated refractometer (Atago, Japan) and a portable digital potentiometer (Hach Chemical Company, Germany), respectively.

At the end of the study, daily growth was calculated according to Coutteau *et al.* (1994) and the condition index of the groups (Crosby and Gale, 1990).

Statistical tests

The data of polychaete intensity per sample (expressed as the increase in the percentage of tubes on the valves relative to the initial number per treatment) were arc-sine transformed $\sqrt{\%}$ for their evaluation (Reyes, 1982). When significant differences ($P < 0.05$) were found between treatments, a simple analysis of variance and Tukey multiple range test were applied.

Normality of the growth data was verified by the Kolmogorov-Smirnov test and their homocedasticity by Levene's test. Size and weight were determined by the one-way Kruskal-Wallis test, while Dunn's method was used to compare means. The condition index and survival were evaluated by a one-way analysis of variance (Sokal and Rohlf, 1969).

The statistical package Jandel Sigma Stata, version 2.0 (1992–1995, USA), was used for all the statistical tests, at 95% probability.

Results

Intensity of polychaetes

The intensity of worms increased in all the treatments until the twelfth week of culture (table 1). After 91 days, the percentage of tubes on the oyster valves decreased in the three treatments. However, only the group of molluscs in the lime treatment showed a reduction in intensity, below the initial value (8 tubes/oyster), from week 14 to the end of the experiment.

After the fourth week of culture, significant statistical differences ($P < 0.05$) were found between the intensity of polychaetes recorded for the lime treatment and that recorded for the fresh-water treatment and control. While the increase of tubes in the lime treatment was not greater than 40% relative to the initial value (8 tubes/oyster), the control group presented the highest value (17 tubes/oyster) in week 10, in relation to the initial intensity of 6 tubes/oyster. In the group treated with fresh water, the mean intensity of polychaetes increased from 5 tubes/oyster at the beginning of the experiment to 12 tubes/oyster in week 12.

Resultados

Intensidad de poliquetos

Se observó un incremento en la intensidad de gusanos para todos los tratamientos hasta la semana de cultivo 12 (tabla 1). A partir de 91 días experimentales, el porcentaje de tubos en las valvas de los ostiones en los tres tratamientos registró un descenso. Sin embargo, sólo el grupo de moluscos tratados con cal mostró una reducción en la intensidad, menor al valor inicial (8 tubos/ostión), desde la semana 14 de cultivo hasta el final del ensayo.

Desde la cuarta semana, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre la intensidad de poliquetos registrada en el tratamiento con cal y las obtenidas con el tratamiento con agua dulce y en el control. En tanto que el aumento porcentual de tubos del grupo tratado con cal no rebasó 40% con relación a su valor inicial (8 tubos/ostión), el grupo control mostró el valor más alto (17 tubos/ostión) en la semana 10 de cultivo, con relación a una intensidad inicial de 6 tubos/ostión. En el caso del grupo tratado con agua dulce, la intensidad media de poliquetos se incrementó de 5 tubos/ostión al inicio del ensayo, hasta 12 tubos/ostión observados en la semana 12 de cultivo.

Tabla 1. Intensidad media de poliquetos epibiontes del ostión *Crassostrea gigas*, por tratamiento, medida cada dos semanas. A partir de la semana 2, la intensidad está expresada como el aumento porcentual de tubos/ostión con relación al valor inicial de cada tratamiento. Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar. Literales distintas en cada fila (a < b) indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Table 1. Mean intensity of the epibiont polychaetes of the oyster *Crassostrea gigas*, per treatment, measured every two weeks. After week 2, intensity is expressed as the percent increase in tubes/oyster relative to the initial value of each treatment. Standard deviations are given in parentheses. The letters in each row (a < b) indicate significant differences ($P < 0.05$).

Semana	Tratamientos		
	Control	Agua dulce	Ca(OH) ₂
0	6.18 (4.50) ^{a,b}	4.78 (4.53) ^a	8.07 (5.41) ^b
Intensidad inicial (tubos/ostión)			
2 (aumento porcentual de intensidad, %)	38 (12) ^a	81 (16) ^b	20 (8) ^a
4	59 (11) ^b	65 (9) ^b	7 (2) ^a
6	90 (14) ^b	92 (16) ^b	16 (6) ^a
8	+100 (15) ^b	88 (13) ^b	38 (14) ^a
10	+100 (19) ^b	+100 (15) ^b	28 (12) ^a
12	+100 (18) ^b	+100 (15) ^b	36 (13) ^a
14	66 (14) ^b	50 (14) ^b	0 ^a
16	4 (1) ^b	23 (11) ^c	0 ^a

Growth and environmental parameters

At the end of the experiment, no significant differences ($P > 0.05$) were found among groups, in the initial and final mean weight and length values, the daily growth (%), and the initial and final condition indices (table 2). The behaviour of temperature, salinity and pH during the study is shown in figure 1.

Survival

The lowest final survival (table 2) was recorded for the organisms in the lime treatment (75.5%), whereas highest survival (86.66%) was recorded for the control group. There were no significant differences ($P > 0.05$) among groups (table 2).

Discussion

The presence of boring polychaetes in the cultivation of molluscs is a health problem for several species in countries involved in this activity (Alagarswami and Chellam, 1976; Bower and Meyer, 1995; Mortensen *et al.*, 2000). Though this problem has also been detected in Mexico, few studies have been conducted in relation to its control (Cáceres-Martínez *et al.*, 1998; Gallo-García *et al.*, 2001; García-Ulloa *et al.*, 2003). Lime is commonly used to control and eradicate epibiont worms on oysters in many parts of the world, but it has been used empirically and there is a lack of scientific documentation regarding its efficiency and optimization. One of the most important indicators to evaluate the impact of worms on molluscs in production units is the intensity. This indicator, defined as the frequency of parasites in a host (Austin and

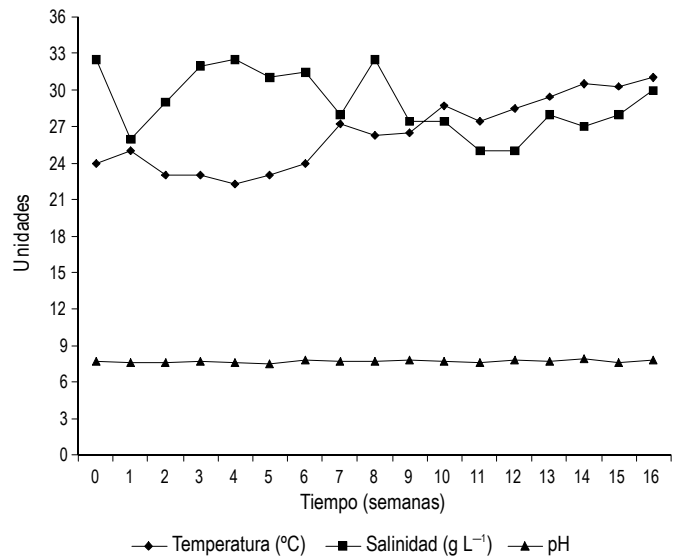


Figura 1. Registro semanal de los promedios de temperatura, salinidad y pH en el sitio de cultivo.
Figure 1. Weekly record of the average temperatures, salinities and pH at the culture site.

Tabla 2. Crecimiento y supervivencia medios de *Crassostrea gigas* por tratamiento. Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar. Literales distintas en cada fila (a < b) indican diferencias significativas ($P < 0.05$). * Distribución normal.

Table 2. Mean growth and survival of *Crassostrea gigas* recorded per treatment. Standard deviations are given in parentheses. The letters in each row (a < b) indicate significant differences ($P < 0.05$). * Normal distribution.

Variables	Tratamientos		
	Control	Agua dulce	Ca(OH) ₂
Talla inicial (cm)	2.76 (0.70) ^b	2.44 (0.63) ^a	3.06 (0.71) ^b
Talla final (cm)	3.05 (0.60) ^a	*2.77 (0.68) ^a	3.0 (0.82) ^a
Peso inicial (g)	4.35 (3.11) ^b	3.14 (3.58) ^a	5.50 (3.29) ^b
Peso final (g)	13.51 (6.96) ^a	10.91 (8.0) ^a	11.93 (6.32) ^a
Crecimiento diario (%)	1.03 (0.3) ^a	1.13 (0.3) ^a	0.70 (0.4) ^a
Índice de condición inicial	*57.58 (30.69)	*57.58 (30.69)	*57.58 (30.69)
Índice de condición final	*152.15 (48.56) ^a	*153.35 (31.38) ^a	*167.85 (69.45) ^a
Supervivencia (%)	86.66 (9.20) ^a	77.77 (7.80) ^a	75.55 (6.30) ^a

Crecimiento y parámetros ambientales

Al finalizar el estudio, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre grupos, en los promedios iniciales y finales de peso y longitud, el crecimiento diario obtenido (%) y en los índices de condición iniciales y finales (tabla 2). En la figura 1 se muestra el comportamiento de las variables, temperatura, salinidad y pH, durante el estudio.

Supervivencia

La menor supervivencia final (tabla 2) se registró entre los organismos del tratamiento con cal (75.55%), mientras que la mayor supervivencia (86.66%) se registró entre los del grupo control. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos (tabla 2).

Discusión

La presencia de poliquetos barrenadores en los cultivos de moluscos es un problema sanitario reportado para varias especies en los países involucrados en dicha actividad (Alagarwami y Chellam, 1976; Bower y Meyer, 1995; Mortensen *et al.*, 2000). Aunque en México éste también ha sido detectado, existen muy pocos trabajos relacionados a su control (Cáceres-Martínez *et al.*, 1998; Gallo-García *et al.*, 2001; García-Ulloa *et al.*, 2003). El uso de cal para controlar y erradicar los gusanos epibiontes del ostión es una práctica común en muchas partes del mundo, pero su empleo ha sido realizado de manera empírica y no existen documentos científicos que informen sobre su eficiencia y optimización. Uno de los indicadores más importantes para evaluar el impacto de los gusanos en las unidades de producción de moluscos es la

Austin, 1989), is used to establish the activity of boring polychaetes in commercially important mollusc species (Bower *et al.*, 1992; Nel *et al.*, 1996; Handley and Bergquist, 1997). In this experiment, intensity was defined as the number of tubes found on the surface of *C. gigas* valves, according to the criterion established by Blake (1996) and Martin and Britayev (1998).

The results obtained in this study suggest that the immersion of oysters in a 0.2% solution of lime for 10 min was more efficient in the control of the frequency of mud tubes on *C. gigas* valves than immersion in fresh water or the control group. After 16 weeks of cultivation, the animals without treatment and those exposed to fresh water presented an increase of 4% and 23%, respectively, in the number of tubes on the shells relative to their initial values (6 and 5 tubes/oyster, respectively). In the lime-treated group there was no increase in the percentage of tubes/oyster after week 14 (table 1), in relation to their initial density of 8 tubes/oyster. In fact, this last group presented the lowest percent values of all the experiment. García-Ulloa *et al.* (2003) studied *in vitro* the effect of exposure to fresh water, out of water and to a 0.2% lime solution on worms taken from infested oysters, and their results indicate that worms die after 2.26 min of exposure to the lime solution, that is, two times faster than the other groups. This could partially explain the observations from this study at the lagoon, establishing the possibility of reducing the time of exposure applied in this experiment. The low efficacy of fresh water in the control of the intensity, compared with the treatment of calcium hydroxide diluted in fresh water, indicates that worms may be sensitive to the chemical elements found in lime (Avault, 1996), to the sudden increase in pH due to its use (Boyd, 1995) or to the combined action of increased pH and the osmotic effect produced by the dilution used.

intensidad. Este indicador, definido como la frecuencia de parásitos encontrados en un hospedero (Austin y Austin, 1989), es utilizado para establecer la actividad de poliquetos barrenadores en especies de moluscos de importancia comercial (Bower *et al.*, 1992; Nel *et al.*, 1996; Handley y Bergquist 1997). En el presente experimento, la intensidad fue establecida como el número de tubos encontrados en la superficie de las valvas de *C. gigas*, de acuerdo al criterio establecido por Blake (1996) y Martín y Britayev (1998).

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que la inmersión de los ostiones en una solución de cal a una concentración de 0.2% por 10 minutos, fue más eficiente en el control de la frecuencia de tubos de lodo en las valvas de *C. gigas*, en comparación con la inmersión en agua dulce y con el grupo control. Después de 16 semanas de cultivo, los animales sin tratamiento y los expuestos al agua dulce registraron, respectivamente, un incremento de 4 y 23% en el número de tubos en las conchas con relación a sus valores iniciales (6 y 5 tubos/ostión, respectivamente). En el grupo tratado con cal no se registró un aumento en el porcentaje de tubos/ostión desde la semana 14 (tabla 1), con relación a su intensidad inicial de 8 tubos/ostión. De hecho, este último grupo obtuvo los valores de porcentaje más bajos en todos los días de muestreo. García-Ulloa *et al.* (2003) estudiaron *in vitro* el efecto de la exposición al agua dulce, fuera del agua y a la solución de cal a la concentración aplicada en el presente ensayo, en gusanos extraídos de ostiones infestados. Los resultados de esa investigación indican que los gusanos mueren en su totalidad a los 2.26 minutos de estar expuestos a la solución de cal, es decir, 2 veces más rápido comparados con los otros grupos, lo que pudiera explicar parcialmente las observaciones del ensayo realizado en la laguna, estableciendo la posibilidad de reducir el tiempo de exposición aplicado en el presente experimento. La baja eficacia del agua dulce en el control de la intensidad, en comparación con el tratamiento con hidróxido de calcio diluido en agua dulce, sugiere que los gusanos podrían ser sensibles a los elementos químicos que componen la cal (Avault, 1996), al incremento repentino del pH por el uso de la misma (Boyd, 1995), o bien, a la acción combinada del aumento del pH con el efecto osmótico producido por la dilución utilizada.

La cantidad de tubos de lodo encontrados en las conchas de *C. gigas* en el presente experimento sugiere una mayor cantidad de gusanos comparada con los resultados reportados por Cáceres-Martínez *et al.* (1998) en cultivos localizados en Bahía Falsa, Baja California, México. Esto puede ser explicado por las diferentes técnicas de cultivo y por las condiciones físicas, químicas y biológicas de cada lugar. Para el caso de las técnicas de cultivo, el mantenimiento de ostiones en la zona intermareal es una forma natural de controlar y erradicar los gusanos barrenadores de las conchas (Cáceres-Martínez y García-Bustamante, 1987; Littlewood *et al.*, 1989; Littlewood *et al.*, 1992; Handley y Bergquist, 1997), aunque con dicha técnica el período de engorda para alcanzar ostiones de talla comercial es más prolongado. En Barra de Navidad los

The number of mud tubes found on *C. gigas* shells in this experiment suggests a greater number of worms compared with the results reported by Cáceres-Martínez *et al.* (1998) in cultures at Falsa Bay, Baja California (Mexico). This can be explained by the different culture techniques used and by the physical, chemical and biological conditions of each location. In the case of culture techniques, maintaining the oysters in the intertidal zone is a natural way of controlling and eradicating fouling worms on the shells (Cáceres-Martínez and García-Bustamante, 1987; Littlewood *et al.*, 1989; Littlewood *et al.*, 1992; Handley and Bergquist, 1997), though with this technique the rearing period to obtain commercial-size oysters is longer. At Barra de Navidad, polychaetes are considered part of the lagoon's natural benthic fauna (Gallo-García *et al.*, 2001); this coincides with Blake's (1996) observations regarding its worldwide distribution. In this lagoon, the oyster's growing season is from winter to spring (November–May), so suspension cultivation is the most recommendable technique (Chávez-Zazueta, 2003). However, this technique results in the formation of a thin shell that is easily bored by worms, making these organisms one of the main problems (Gallo-García *et al.*, 2001).

Regarding environmental parameters, water temperature is considered an important factor to determine the abundance of *Polydora* sp. Cáceres-Martínez *et al.* (1998) obtained low worm prevalence indices in oyster valves at lower temperature gradients, while in this study, a greater number of tubes were observed throughout the experiment, coinciding with Lauckner (1983), who mentions that the polychaete population increases in relation to water temperature. The water temperature recorded in the last month of the experiment could have acted as regulator in the frequency of the mud tubes, reaching the tolerance limit; however, it is necessary to correctly evaluate this parameter and identify the worm species to establish an appropriate conclusion in this sense.

The growth results (size, weight and condition index) obtained after 16 weeks of culture did not show significant differences among treatments, but they were lower than those reported by García-Ulloa (1997) and Gallo-García *et al.* (2001), who tested different parts of the lagoon to evaluate potential culture sites. The physical, chemical and biological conditions of each site and the different cultivation times may partly explain the different results. Chávez-Zazueta (2003) studied potential sites for the cultivation of *C. gigas* at Barra de Navidad Lagoon and established differences in depth, substrate, productivity and environmental parameters that affected the oyster's growth; this author also noted the presence of polychaetes at all the sites. Apparently, the culture site selected for the present work did not present conditions for the optimum growth of *C. gigas*. On the other hand, Quayle and Newkirk (1989) mention that the stress generated by the continuous handling of animals may have a negative effect on growth. The weekly cleaning routine in this study was established based on previous studies (García-Ulloa, 1997; García-Ulloa *et al.*, 1998b; Gallo-García *et al.*, 2001), which report greater growth

poliquetos son considerados integrantes de la fauna bentónica natural de la laguna (Gallo-García *et al.*, 2001), lo que coincide con las observaciones de su distribución mundial establecida por Blake (1996). En esta laguna, la temporada de engorda del ostión abarca el invierno y la primavera (noviembre–mayo), por lo que su cultivo en suspensión es la técnica más recomendable (Chávez-Zazueta, 2003). Sin embargo, dicha técnica promueve la formación de una concha delgada que puede ser fácilmente barrenada por los gusanos, lo que hace de estos organismos uno de los principales problemas a resolver en futuros ensayos (Gallo-García *et al.*, 2001).

En el caso de los parámetros ambientales, la temperatura del agua es considerada como un factor importante en la determinación de la abundancia del género *Polydora* sp. Cáceres-Martínez *et al.* (1998) obtuvieron bajos índices de prevalencia de los gusanos en las valvas de ostión a menores gradientes de temperatura, mientras que en el presente ensayo se observó mayor cantidad de tubos en todos los grupos durante todo el experimento, coincidiendo con las observaciones de Lauckner (1983), quien menciona que la población de poliquetos aumenta con relación a la temperatura del agua. La temperatura del agua registrada en el último mes de cultivo pudo actuar como regulador en la frecuencia de los tubos de lodo alcanzando su límite de tolerancia; sin embargo, es necesaria la correcta evaluación de dicho parámetro y la identificación de las especies de gusanos para establecer una conclusión adecuada en este sentido.

Los resultados de crecimiento (talla, peso e índice de condición) obtenidos después de 16 semanas experimentales, no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, aunque fueron menores comparados a los reportados por García-Ulloa (1997) y Gallo-García *et al.* (2001), quienes realizaron ensayos en diferentes partes de la laguna para evaluar sitios potenciales de cultivo. Las condiciones físicas, químicas y biológicas propias de cada lugar y los diferentes tiempos de cultivo, pudieran explicar parcialmente la variación en los resultados. Chávez-Zazueta (2003) evaluó sitios potenciales para el cultivo de *C. gigas* en la laguna de Barra de Navidad y estableció diferencias en la profundidad, sustrato, productividad y parámetros ambientales que afectaron el crecimiento del ostión; asimismo, destacó la presencia de poliquetos en todos los sitios. Al parecer, el sitio de cultivo donde se realizó el presente estudio no presentó las condiciones para el crecimiento óptimo de *C. gigas*. Por otro lado, Quayle y Newkirk (1989) mencionan que el estrés generado por el manejo continuo de los animales pudiera ser un factor que afecta negativamente al crecimiento. La rutina de limpieza semanal aplicada en este experimento fue establecida con base en ensayos anteriores (García-Ulloa, 1997; García-Ulloa *et al.*, 1998b; Gallo-García *et al.*, 2001) en los que se ha reportado un mayor crecimiento de *C. gigas*, comparado con el obtenido en el presente ensayo, lo que sugiere que este parámetro biológico se vió más bien afectado por los parámetros ambientales del lugar de cultivo.

of *C. gigas* than that obtained herein, indicating that the environmental parameters of the culture site had a greater effect on this biological parameter.

Final survival values did not present significant differences among the groups, ranging from 75.55% for the lime treatment to 86.66% for the control group. These values are high compared with those obtained by Gallo-García *et al.* (2001), who recorded a mean survival of 48%, and similar to those reported by García-Ulloa (1997), of 74% for different culture sites at the same lagoon.

Since no significant differences were found among the experimental groups in the evaluation of the biological parameters studied for the oyster, it is not possible to conclude that growth and survival of *C. gigas* were directly affected by the presence of shell-boring worms. According to the results obtained and to the climatological and ecological conditions of Barra de Navidad Lagoon, where high temperatures were recorded in late spring, the suspension cultivation technique is recommended in order to avoid exposing the oysters to overheating during the cleaning routine and prevent the transmission and infestation of polychaetes that inhabit the bottom. The permanent presence of boring worms in the oyster cultures at this lagoon (Chávez-Zazueta, 2003) indicates the need for an efficient treatment of rapid application, and we propose immersion in baths of lime diluted to a concentration of 0.2% as a measure for their control and eradication. However, greater information is necessary regarding the time and period of application to optimize its use.

Acknowledgements

The authors thank the students José Azcona-Parra, Alejandra Calvo-Fonseca, Leonora Márquez-Barberena, Francisco Ochoa-Covarrubias and Benjamín Vargas-Cabrera (97–01 generation in Engineering in Aquatic Biotechnology at the Autonomous University of Guadalajara), as well as the technical and administrative staff of the Marine Science Laboratory for their collaboration. The facilities provided by Puerto de la Navidad Operadora Turbana, S.A. de C.V., are acknowledged.

English translation by Christine Harris.

La supervivencia final no presentó diferencias significativas entre los grupos, registrando valores desde 75.55% para el tratamiento con cal, hasta 86.66% para el grupo control. Estos valores son altos comparados con los obtenidos por Gallo-García *et al.* (2001), quienes registraron una supervivencia media de 48%, y similares a los reportados por García-Ulloa (1997) de 74% para diferentes sitios de cultivo en la misma laguna.

Debido a que no existieron diferencias significativas entre los grupos experimentales en la evaluación de los parámetros biológicos estudiados para el ostión, no es posible concluir que

el crecimiento y la supervivencia de *C. gigas* fueron directamente afectados por la presencia de gusanos barrenadores en las conchas. De acuerdo con los resultados obtenidos y con las condiciones climatológicas y ecológicas de la laguna de Barra de Navidad, en la que se registran altas temperaturas al final de la primavera, es recomendable el uso de la técnica de cultivo en suspensión, para no exponer a los ostiones a sobrecalentamiento durante la rutina de limpieza, y evitar la transmisión e infestación de poliquetos que habitan en el fondo. Por otro lado, la presencia permanente de gusanos barrenadores en los cultivos de ostión de dicha laguna (Chávez-Zazueta, 2003) sugiere el uso de un tratamiento eficaz de rápida aplicación, por lo que se proponen los baños en cal diluida a una concentración de 0.2% como medida para su control y erradicación. No obstante, es necesaria mayor información en cuanto al tiempo y período de aplicación para optimizar su uso.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración en el presente trabajo de José Azcona-Parra, Alejandra Calvo-Fonseca, Leonora Márquez-Barberena, Francisco Ochoa-Covarrubias y Benjamín Vargas Cabrera, alumnos de la Generación 97-01 de la carrera de Ingeniería en Biotecnología Acuicola de la Universidad Autónoma de Guadalajara. También se agradece el apoyo del personal técnico y administrativo del Laboratorio de Ciencias Marinas, y las facilidades otorgadas por la marina Puerto de la Navidad Operadora Turbana, S.A de C.V.

Referencias

- Alagarawami, K. and Chellam, A. (1976). On fouling and boring organisms and mortality of pearl oysters in the farm at Veppalodai Gulf of Mannar. *Indian J. Fish.*, 23(1-2): 10-22.
- Austin, B. and Austin, D.A. (1989). *Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish*. Ellis Horwood, West Sussex, UK, 317 pp.
- Avault Jr., J.W. (1996). *Fundamentals of Aquaculture. A Step by Step Guide to Commercial Aquaculture*. AVA Publ., Louisiana, 889 pp.
- Bardach, J.E., Ryther, J.H. and McLarney, W.O. (1986). *Aquaculture. The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms*. Wiley-Interscience, New York, 868 pp.
- Blake, J.A. (1996). Family Spionidae Grube, 1850. Including a review of the genera and species from California and a revision of the genus *Polydora* Bosc, 1802. In: J.A. Blake, B. Hilbig and P.H. Scott (eds.), *Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel*. Vol 6. The Annelida. Part 3. Polychaeta Orbinnidae to Cossuridae. Kinko's Graphics, California, pp. 81-92.
- Bower, S.M. and Meyer, G.R. (1995). Causes of mortalities among cultured Japanese scallops (*Patinopecten yessoensis*) in British Columbia. Annual Meeting National Shellfisheries Assoc., Pacific Coast section and Pacific Coast Oyster Growers Assoc., Seaside, Oregon, USA, October 2-4. Vol. 14(1): 227.
- Bower, S.M., Blackburn, J., Meyer, G.R. and Nishimura, D.J.H. (1992). Diseases of cultured Japanese scallops (*Patinopecten yessoensis*) in British Columbia, Canada. PAMAQ IV. Fourth International Colloquium on Pathology in Marine Aquaculture, Vigo, Spain, September 17-21. Vol. 107(2-3): 201-210.
- Boyd, C.E. (1995). *Bottom Soils, Sediment, and Pond Aquaculture*. Chapman & Hall, New York, 348 pp.
- Cáceres-Martínez, C. and García-Bustamante, G. (1987). Cultivo piloto de ostión *Crassostrea gigas* T. en costales sobre estantes en la zona intermareal en la Bahía Magdalena, BCS: Influencia de la densidad sobre el crecimiento. VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada, Baja California, México, 10 pp.
- Cáceres-Martínez, J.A., Montes-de-Oca-Macías, P. and Vásquez-Yeomans, T. (1998). *Polydora* sp. infestation and health of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* cultured in Baja California, NW Mexico. *J. Shellfish Res.*, 17 (1): 259-264.
- Chávez-Zazueta, R.A. (2003). Crecimiento y sobrevivencia del ostión del Pacífico *Crassostrea gigas*, en la parte de influencia marina del la Laguna de Barra de Navidad, Jalisco, México. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Guadalajara, Jalisco, México, 71 pp.
- Coutteau, P., Hadley, N.H., Manzi, J.J. and Sorgeloos, P. (1994). Effect of algal ration and substitution of algae by manipulated yeast diets on the growth of juvenile *Mercenaria mercenaria*. *Aquaculture*, 120: 135-150.
- Crosby, M.P. and Gale, L.D. (1990). A review and evaluation on bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. *J. Shellfish Res.*, 9 (1): 233-237.
- Fauchald, K. (1977). *The Polychaete Worms. Definitions and keys to orders, family and genera*. Science Ser. 28. Natural History Museum of Los Angeles County, California, 188 pp.
- Gallo-García, M.C., Godínez-Siordia, D.E., García-Ulloa, G.M. y Rivera-Gómez, K. (2001). Estudio preliminar sobre el crecimiento y sobrevivencia del ostión del Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873) en la laguna de Barra de Navidad, Jalisco, México. *Univ. Cienc.*, 17(34): 83-91.
- García-Ulloa, G.M. (1997). El ostión de cultivo es ya una realidad en el estado de Jalisco. Periódico Ocho Columnas, julio 31, sección 5-D, p. 3.
- García-Ulloa, G.M., Hinojosa-Larios, J.A., Gamboa-Delgado, J. and Godínez-Siordia, D.E. (1998a). Effect of different diets on the condition index and coliform bacteria content of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg, 1873) using an experimental depuration system. *Adv. Agric. Res.*, 7: 9-13.
- García-Ulloa, G.M., Gamboa-Delgado, J., Godínez-Siordia, D.E. and Martínez-Contreras, T.M. (1998b). Dietary supplementation with baker's yeast on the *Crassostrea gigas* (Thunberg) nursery and its effect on the physiological condition after oyster transference to natural environment. *Adv. Agric. Res.*, 7: 1-8.
- García-Ulloa, G.M., González-Ochoa, O.A., Gallo-García, M.C. y Rivera-Gómez, K. (2003). Uso de hidróxido de calcio Ca(OH)₂ como agente de prevención y control de gusanos barrenadores (Spionidae) de la concha del ostión del Pacífico, *Crassostrea gigas*. *Ciencia Nicolaita*, 36: 65-72.
- Handley, S.J. and Bergquist, P.R. (1997). Spionid polychaete infestations of intertidal Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), Mahurangi Harbour, northern New Zealand. *Aquaculture*, 153: 191-205.
- Larrea, R.E., Ruíz, G.E. y Jiménez M.B. (s/f). Efecto biocida del hidróxido de calcio Ca(OH)₂ y la importancia de su utilización en la agricultura. Folleto informativo. Asociación Nacional de Fabricantes de la Cal, México.
- Lauckner, G. (1983). Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: O. Kinne (ed.), *Diseases of Marine Animals*. Vol. II. Introduction to Scaphopoda. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, pp. 805-817.
- Littlewood, D.T.J., Wargo, R.N. and Kraeuter, J.N. (1989). Growth, mortality, MSX infection and yield of intertidally grown of *Crassostrea virginica*. *J. Shellfish Res.*, 8: 469.

- Littlewood, D.T.J., Wargo, R.N. Kraeuter, J.N. and Watson, R.H. (1992). The influence of intertidal height on growth, mortality and *Haplosporidium nelsoni* infection in MSX mortality resistant eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791). *J. Shellfish Res.*, 11: 59–64.
- Martin, D. and Britayev, T.A. (1998). Symbiotic polychaetes: Review of known species. In: A.D. Ansell, R.N. Gibson and M. Barnes (eds.), *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. UCL Press, 36, pp. 217–340.
- Mortensen, S., Van der Meeren, T., Fosshagen, A., Hernar, I., Harkstad, L., Torkildsen, L. and Bergh, O. (2000). Mortality of scallop spat in cultivation, infested with tube dwelling worms, *Polydora* sp. *Aquacult. Int.*, 8: 267–271.
- Nel, R., Coetzee, P.S. and Van Niekerk, G. (1996). The evaluation of two treatments to reduce mud worm (*Polydora hoplura* Claparede) infestation in commercially reared oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 141 (1–2): 31–39.
- Quayle, D.B. and Newkirk, G.F. (1989). Farming Bivalve Molluscs: Methods for Study and Development, *Advances in World Mariculture*, Vol. 1. World Aquaculture Soc., California, 294 pp.
- Reyes, C.P. (1982). *Bioestadística Aplicada*. 1ra ed. Trillas, México, DF, 217 pp.
- Robles-Mungaray, M. y Salinas-Ordaz, D. (1993). Producción de larvas. En: A. López-Elías, C. Cáceres-Martínez, F. Hoyos-Chaires, J. Rivera-Zepeda, J. Valdez-Pérez, D. Salinas-Ordaz, M. Robles-Mungaray y S. Serrano-Guzmán (eds.), *Manual del II Curso de Cultivo Integral de Ostión Japonés (*Crassostrea gigas*)*. 1993 Mayo 17–23. Bahía de Kino, Sonora, México: Sección 3.
- Salazar-Vallejo, S., León-González, J.A. y Salaices-Polanco, H. (1988). Poliquetos (Annelida: Polychaeta) de México. *Libros Universitarios*, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, BCS, México, 200 pp.
- Sandoval-Rojo, L.C. (1985). Contribución al conocimiento de la productividad primaria fitoplanctónica de la Laguna de Barra de Navidad, Jalisco, México. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Guadalajara, Jalisco, México, 81 pp.
- Skeel, M.E. (1979). Shell-boring worms (Spionidae: Polychaeta) infecting cultivated bivalve molluscs in Australia. In: J.W. Avault Jr. (ed.), *Proc. Tenth Annual Meeting of the World Aquaculture Society*, pp. 529–533.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. (1969). *Biometry*. W.H. Freeman, New York, 654 pp.
- Takikawa, M., Uno, K., Ooi, T., Kusumi, T., Akera, S., Murumatsu, M., Mega, H. and Horita, C. (1998). Crenulacetal C, a marine dipterene, and its synthetic mimics inhibiting *Polydora websterii*, a harmful lugworm damaging pearl cultivation. *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 46(3): 462–466.
- Velayudhan, T.S. (1983). On the occurrence of shell boring polychaetes and sponges on pearl oyster *Pinctada fucata* and control of boring organisms. In: *Marine Biological Association of India* (ed.), *Proc. Symposium on Coastal Aquaculture*, 1980 January 12–14. Conchin, India, pp. 614–618.