

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL**

**“CAUSAS DE MORTALIDAD DEL ABALÓN ROJO (*Haliotis rufescens*) EN  
ETAPA DE ENGORDA EN EL PERÍODO OTOÑO-INVIERNO”**

Memoria de título presentada como parte  
de los requisitos para optar al grado de  
Médico Veterinario

**CRISTIÁN ROJAS VILLALOBOS**

**VALDIVIA-CHILE**  
**2005**

## INDICE

	<b>Página</b>
<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. SUMMARY</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>10</b>
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>13</b>
<b>6. DISCUSIÓN</b>	<b>20</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>24</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>25</b>
<b>9. AGRADECIMIENTOS</b>	<b>29</b>
<b>10. ANEXOS</b>	<b>30</b>

**PROFESOR PATROCINANTE:**

**RICARDO ENRIQUEZ S.** \_\_\_\_\_

**Nombre**

**Firma**

**PROFESORES CALIFICADORES:**

**ENRIQUE PAREDES H.** \_\_\_\_\_

**Nombre**

**Firma**

**ORLANDO GARRIDO O.** \_\_\_\_\_

**Nombre**

**Firma**

**FECHA DE APROBACIÓN:**

\_\_\_\_\_

## 1. RESUMEN

### “Causas de mortalidad de Abalón Rojo (*Haliotis rufescens*) en etapa de engorda en el periodo otoño-invierno”

Como objetivo de este estudio se planteó el identificar las principales causas de mortalidad del abalón rojo, en ejemplares con tamaños mayores a 1,5 cm de diámetro que estaban iniciando la etapa de engorda en el mar y en la cual los abalones ya no presentan mortalidad por adaptación.

Se realizaron muestreos dirigidos de los ejemplares moribundos y de mortalidad fresca, en los meses de abril a agosto desde un Centro de Cultivo en la X Región, ubicado en el sector de bahía Ilque, Puerto Montt. Su sistema de cultivo utiliza barriles plásticos de 250 L con rejillas a 8 m de profundidad. La obtención de las muestras se realizó al momento de la alimentación de los abalones.

De los especímenes recepcionados se midieron parámetros morfométricos como diámetro mayor y menor y peso, para posteriormente realizar un examen anatomopatológico externo, en donde se describió la presencia de lesiones tanto en tejidos blandos como de la concha. Posteriormente se tomó muestras de hígado, pie y hemolinfa para cultivo bacteriológico en Agar TCBS y TSA-sal y luego se identificaron las cepas de *Vibrio sp.* con una batería bioquímica. El análisis micótico se realizó a aquellos individuos en los que se observó alguna lesión externa. Las conchas con lesiones características de parasitismo, se clasificaron en grados de leve a severo y fueron analizadas mediante su descalcificación con ácido nítrico.

Los resultados obtenidos de las características externas relevantes de los abalones fueron el daño o alteraciones de continuidad en las conchas y pérdida de tejidos blandos.

De los análisis bacteriológicos se logró aislar 11 especies diferentes de *Vibrio sp.* identificándose sólo 2 de ellas, *Vibrio tubiashii* y *Vibrio fisheri*. Todos estos aislados fueron sensibles a oxitetraciclina, flumequina, florfenicol y sulfatrimetoprim. Un aislado presentó resistencia a ácido oxolínico.

Se logró identificar y cuantificar a *Dipolydora huelma* como el único parásito poliqueto presente en la concha de 19 abalones de un total de 198, con un rango de abundancia promedio mensual de 2 a 184 parásitos, que se incrementó en los meses finales de muestreo.

No se encontraron protozoos ni hongos en los abalones analizados.

Palabra clave: *Haliotis*, Abalón rojo, mortalidad, *Vibrio*, engorda.

## 2. SUMMARY

### **“Mortality causes of Red Abalone (*Haliotis rufescens*) in grow fat phase in the autumn-winter seasons”.**

The object of this study was the identification of the meaning Red Abalone death causes in the grow fat phase in a open marine environment with a diameter mayor of 1.5 cm without adaptation mortality.

A directed sampling in the months of april to august was carried out in a company in the X region, sector of Ilque bay, Puerto Montt, with a system of culture in plastic barrels with grids, to 8 m of depth. The process was carried out at feeding of the abalone.

Of the sample units, morphological parameters were measured like smaller and greater diameter and weight, for subsequently analyze the external anatomical form, where the presence of so much wounds in soft weavings as the seashell was described. Subsequently liver, mussel and hemolymph sample was taken for bacteriological cultivation in Agar TCBS and TSA-salt and the *Vibrio sp.* strains were identified with a biochemical battery. The fungal analysis was carried out to the individuals in which some external wound was observed. The seashells with characteristic wounds of parasitism, with degrees of light to severe were analyzed by nitric acid decalcification method.

The results obtained of the most notorious external characteristics wounds are the damage in the seashells with losses of soft tissues or alterations of their continuity.

The isolation of 11 different *Vibrio* species was achieved, being identified only 2 of them, *Vibrio tubiashii* and *Vibrio Fisheri*. All these isolated showed susceptibility to oxitetracilin, flumequin, florfenicol and sulfatrimetoprim, just one presented resistance to oxolinic acid.

It managed to identify and to quantify *Dipolydora huelma* as the only parasite polichaete present in the shell of 19 abalone of 198, with a monthly average abundance of 2 to 184 parasites increasing at the final sampled month.

Protozoan parasites and fungus was not found in the samples.

Keywords: *Haliotis*, Red abalone, mortality, *Vibrio*, grow fat phase.

### 3. INTRODUCCION

En el mundo existen alrededor de 100 especies conocidas de abalón todas ellas pertenecientes al Género *Haliotis*, las cuales se encuentran distribuidas mayoritariamente en las zonas templadas del globo (Hahn 1989).

*Haliotis rufescens*, abalón rojo o abalón de California, especie también conocida como abulón, oreja de mar, pertenece taxonómicamente al Phylum Mollusca, Clase Gastrópoda, Orden Arqueogastropoda, Familia Haliotidae y Género *Haliotis*.

Los primeros registros relacionados con el abalón, se remontan a millones de años atrás. Hallazgos obtenidos desde la costa pacífico en Norteamérica, entre Alaska y Baja California, donde los indígenas los destinaban a la alimentación y fabricación de implementos de decoración antes de la llegada de los europeos a América (Department of Fish and Game 1995).

Existen registros que la extracción comercial se inició a mediados del siglo XX, con volúmenes cercanos a 1.900 toneladas antes de 1969, sin ningún tipo de control o estudio poblacional lo que provocó una disminución en su captura y por consiguiente en su oferta, lo que incentivó el desarrollo de su cultivo comercial intensivo (Department of Fish and Game 1995).

El cultivo industrial a nivel mundial tiene sus inicios a partir de la década de 1980, llegando en el año 2002 a aproximadamente 7.500 ton año (Pérez 2004) (Figura 1).

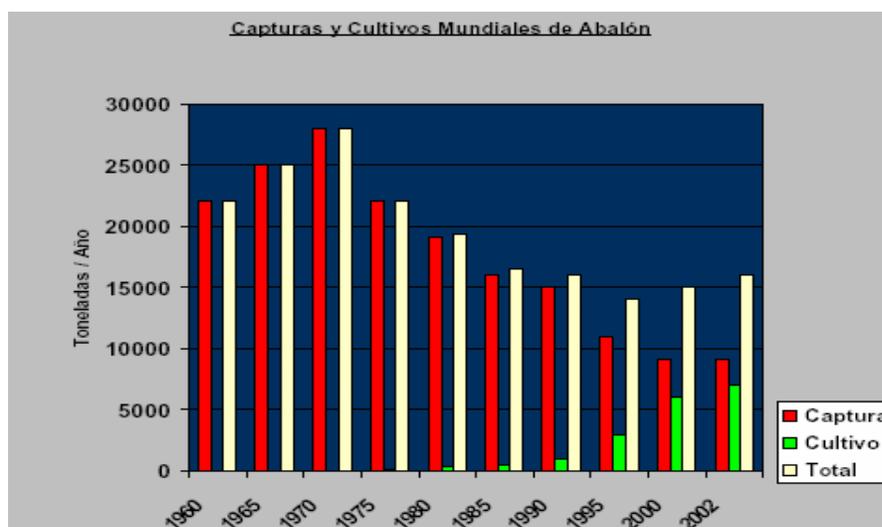


Figura 1. Toneladas anuales de abalón capturado vs cultivado entre los años 1960 y 2002 (Pérez 2004)

Los principales países productores en la actualidad en orden de importancia son: China, Japón, Corea, Australia, EEUU, Sudáfrica, Nueva Zelanda y Chile, siendo principalmente países de la cuenca del Pacífico (Rivera e Illanes 2000). Desde el punto de vista comercial, *Haliotis rufescens* y *Haliotis corrugata* son las especies consideradas de mayor valor, debido a su rápido crecimiento y al gran tamaño que pueden alcanzar, junto con otras especies como el abalón japonés (*Haliotis discus hannai*) (Bautista 1989).

Se estima que la producción mundial de abalón japonés (*Haliotis discus hannai*) cultivado fluctuará entre 300 y 500 ton, de las cuales aproximadamente 10 ton son producidas en Chile. En cambio, se producen alrededor de 230 ton de abalón rojo en todo el planeta y Chile aporta con poco más de 80 ton de producto (Aquanoticias 2003).

La participación en el consumo de los mercados mundiales está liderado por países asiáticos, Hong Kong, Japón, China, Taiwán y Singapur, quienes consumen el 96% de la demanda mundial (Figura 2), donde el valor agregado dado por variadas presentaciones buscan satisfacer al mercado (Flores 2004).

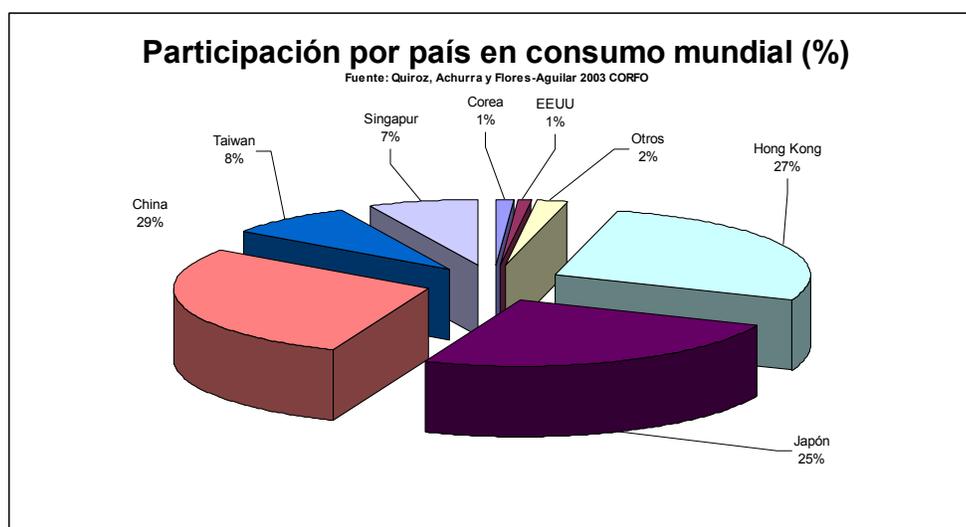


Figura 2: Participación en porcentaje por países en el consumo mundial de abalón en año 2003.

En Chile se cultiva principalmente abalón rojo o californiano (*Haliotis rufescens*) y abalón verde o japonés (*Haliotis discus hannai*). Aún cuando son de la misma familia el abalón rojo a diferencia del abalón japonés, es la especie *Haliotis* más grande del mundo, alcanzando longitudes máximas de 27,5 cm y peso de 1,7 kg. Se encuentra natural y preferentemente en zonas protegidas de marejada, viento y corriente, en el Pacífico nororiental a lo largo de la costa de California, con un rango de temperatura que oscila entre 7 y 20 °C. En tanto, el abalón japonés habita desde Siberia a China en fondos rocosos de aguas someras relativamente frías (Aquanoticias 2003).

El cultivo experimental del abalón se inició en Chile en 1982 con la introducción del abalón rojo (*H. rufescens*) por la Universidad Católica del Norte y Fundación Chile (Ziomi 2000). La Subsecretaría de Pesca autorizó el cultivo del abalón, exclusivamente en sistemas de circuito controlado cerrado. No obstante después de ser aprobado el estudio de impacto ambiental llevado a cabo por Fundación Chile, puede ser cultivado en la zona comprendida entre las latitudes 41° 50' 00'' S y 46° 00' 00'' S, en sistemas de circuito abierto o semicerrado, por lo que el cultivo en tierra se realiza en la zona centro-norte del país en las provincias de Copiapó y Coquimbo y en el mar en la zona de Puerto Montt y Chiloé (Acevedo y Campos 2000).

Inicialmente se comenzó con semillas y adultos importados, luego se planificó producir el ciclo de vida completo en Chile, disminuyendo así el riesgo de ingresar enfermedades asociadas a esta especie (Godoy y Jerez 1998).

La explotación industrial se inició en 1992, las primeras cosechas se obtuvieron en 1995 y fueron exportadas a Estados Unidos como producto vivo durante 2 años. Las cosechas se vieron incrementadas de 8 ton en 1996 a 48 ton en 1999 (Ziomi 2000).

Durante la década de 1990 inician sus actividades varias empresas abaloneras en la zona de Chiloé, varias de ellas dedicadas al cultivo de salmón y otras a los mitílidos, las que toman al abalón como una alternativa comercial (Rivera y Poblete 2001).

El abalón es una de las dos especies de cultivo reciente en Chile, siendo considerada en el extranjero como una “exquisitez”. Es una especie altamente cotizada en el exterior y con una demanda insatisfecha.

El mayor costo de implementar un cultivo de abalón, radica en los incurridos hasta lograr la operación, y este depende del grado de conocimiento y complejidad de las técnicas productivas a usar, si se planifica cultivo en tierra sin Hatchery se proyecta una producción anual de 25 toneladas la inversión es del orden de los US\$ 668.000 en cambio para cultivo en tierra con Hatchery con producción anual de 100 ton inversión es de US\$ 1.085.000 y para engorda en mar con Hatchery es de 100 ton y US\$ 500.000.000 en inversiones. En general presenta un alto riesgo tecnológico sobre todo el abalón japonés (*H. discus hannai*). (Olivares 2004)

Chile se perfila como país clave en el mercado internacional. La producción de abalón rojo lo sitúa con ventaja sobre otros países competidores que no producen esta especie, compitiendo directamente contra Estados Unidos y México en el mercado norteamericano, donde la talla es un elemento clave a considerar para obtener un precio “premium”, que bordea los US\$ 30/kg. El precio promedio del abalón durante el año 2003, fue de US\$ 18/k enviándose aproximadamente 83 ton netas de abalones al extranjero (Pérez 2004)

La demanda del mercado mundial de abalón y las diferentes crisis económicas provocaron que los precios bajaran en forma importante entre los años 2000 y 2003, mostrando un repunte para al 2004 debido principalmente a nuevos nichos de mercado dentro de los países de destino (Pérez 2004) (Figura 3).

Del total de los envíos, un 84 % correspondió a producto congelado, 16 % a producto vivo y prácticamente no se enviaron productos en conservas (Aquanoticias 2003).

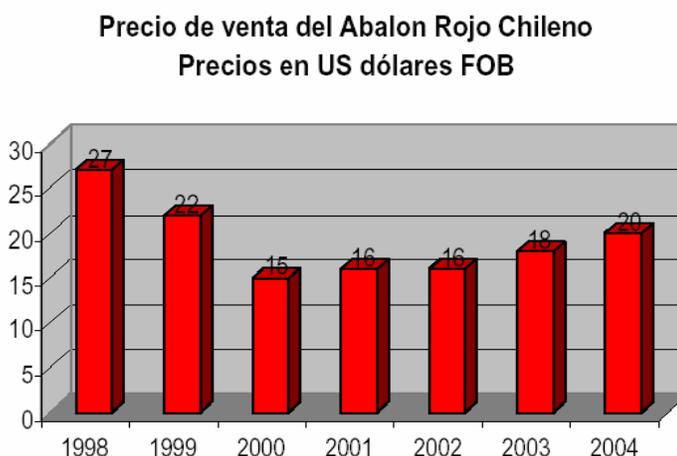


Figura 3. Variación de precio (USD) del abalón rojo (*H. rufescens*) período 1998 a 2004 (Pérez 2004)

Respecto de la alimentación, dos tipos de alimento o una combinación de ambos se utilizan mundialmente en el cultivo del abalón: algas marinas y alimento artificial. Las algas más usadas son *Macrocystis sp.*, *Gracilaria sp.*, *Laminarina sp.*, *Lessonia sp.* y otras algas laminariales (Ureta 2000).

En Chile la postlarva se alimenta de diatomeas y los juveniles o semillas se adecuan a la alimentación con algas (Hahn 1989). En el norte del país, los abalones se alimentan con *Lessonia spp*, *Macrocystis integrifolia* y reducidas dosis de *Ulva spp* y *Gracilaria spp.*, mientras que en el sur, con *Macrocystis pyrifera* y *Gracilaria chilensis*. La forma de alimentar es a través de la incorporación de alga fresca a los estanques de cultivo, también se han incorporado sistemas semiautomáticos de alimentación. Para la industria nacional el tema de la nutrición de abalones no es menor, la alimentación es reconocida por los empresarios como un gran desafío en el sentido de desarrollar alimento artificial y cultivo de algas. Sin embargo, los alimentos artificiales disponibles tienen una corta vida útil en el agua, dificultando el manejo operacional. A esto se agrega la mayor valoración que existe en los mercados internacionales del abalón alimentado naturalmente (Aquanoticias 2003).

Las posibilidades de crecimiento de los abalones en el sur son buenas, con tasas de crecimiento de 1,9 mm mensual y sobrevivencia del 82% alcanzados por nuevas empresas en la zona con un cierto nivel de tecnología (Flores 2004).

Anatómicamente el abalón posee una concha que en su borde presenta una fila de poros respiratorios que varían en número según la especie, un pie muscular que le permite un fuerte asentamiento en los fondos rocosos, un manto que rodea a una estructura sensitiva llamada epipodio, el cual provisto de pequeños tentáculos, se puede proyectar más allá de la concha. Los órganos internos se ubican bajo la concha rodeando al pie. Destacan por su tamaño las gónadas, en la cabeza posee un par de ojos y dos tentáculos sensoriales (Hahn 1989).

La cavidad donde se encuentran las branquias se ubica al costado de la boca, bajo los poros respiratorios. La boca posee en su interior una rádula, que es el órgano que le permite roer el alimento; y un sistema digestivo compuesto por esófago, estómago, glándula digestiva e intestino (Department of Fish and Game 1995).

Sexualmente los individuos presentan un dimorfismo basado en la coloración de las gónadas. Las ovas y el esperma son liberados al medio a través de los poros respiratorios, el desove está influenciado por la temperatura del agua y el fotoperíodo. Una vez producida la fertilización que tiene lugar en la columna de agua, se desarrollan varios estadios larvales, luego de 13 horas posterior a la fecundación, la larva trocófora, se libera de las membranas del huevo e inmediatamente presenta comportamiento pelágico, al segundo día comienzan los cambios morfológicos tendientes a formar y ubicar la concha, entrando a estado de larva veliger, la cual es ciliada y móvil, teniendo desarrollado el pie, en el día 4 a 5 se termina de desarrollar los tentáculos del epipodio y resto de los órganos así como la forma definitiva de la concha con sus poros respiratorios. Es en el estado juvenil en el que se produce el asentamiento en el fondo marino, para finalmente alcanzar el estado adulto sexualmente activo. Se ha observado que alrededor del día 160 post-fertilización puede alcanzar los 6,2 mm en el largo de la concha y a los 435 días posterior a la fecundación 21,15 mm. (Department of Fish and Game 1995).

En términos generales se tiene conocimiento que la mortalidad de abalones en cultivo está influenciada por factores físicos y químicos (temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y otros) y por enfermedades infecciosas (Cáceres 2000). Entre estas últimas destacan como las más importantes las de origen bacteriano y parasitario. A nivel mundial se describen como los patógenos bacterianos más relevantes para el abalón a: *Vibrio fluvialis-II* (Enfermedad de la Pústula), *Vibrio alginolyticus* (Vibriosis Juvenil), *Candidatus xenohaliotis californiensis* que es el agente propuesto para el “Síndrome de Deshidratación” (Withering syndrome). Los patógenos protozoarios descritos son *Margolisiella haliotis* (Coccidiosis), *Labyrinthuloides haliotidis* (Infección por *L. haliotidis*), *Cliona celata californiana* (Infestación por Cliona), *Panitella conradi* (Infestación por *Panitella*), gusanos Poliquetos del Género *Polydora sp.* (Infestación por *Polydora*) y gusanos Poliquetos Sabélidos (Sabelidosis) (Cáceres 2000).

En el caso de Chile los agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas presentes son variados, tanto bacteriológicos como parasitarios. Se han descrito dentro de estos la Vibriosis (*Vibrio sp.*) a *Vibrio vulnificus*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio fisheri* y *Vibrio splendidus II*, Withering Síndrome (*Candidatus xenohaliothis californiensis*), Coccidiosis (*Margolisiella haliothis*). Algunas infecciones internas y externas por protozoos y por la acción de organismos epibiontes (*Megabalanus sp.*, *Romanchela sp.*, *Crepidula sp.*, *Mytilus sp.*) y los poliquetos que causan Sabelidosis (*Terebrasabella heterouncinata*) y Polydoriasis (*Polydora sp.*) (Faune 2003, Godoy 2004).

Existen estudios que describen al género *Vibrio* como uno de los más variados causantes de enfermedades tanto en abalones como otras especies. En abalones se describe la “Vibriosis Juvenil” causada por *Vibrio harveyi* y *Vibrio alginolyticus* y la “Enfermedad de la Pústula” causada por *Vibrio fluvialis II* (Viana 2001), además según Riquelme y col (2001) se describe a *V. tubiashii* como un microorganismo patógeno de peces y moluscos junto a *V. anguillarum* y *V. salmonicida*. Gibson y col (1998) también hacen referencia a la patogenicidad de *V. tubiashii* en moluscos, al ser usado para desafiar larvas de *Crassostrea gigas* (Ostra del pacífico).

Los parásitos poliquetos descritos corresponden a los Sabélidos, los cuales afectan la concha del abalón produciendo retraso en el crecimiento y en cuadros muy agudos deformación de la concha (Oakes y Fields 1996). El sabélido *Terebrasabella heterouncinata*, que tiene la particularidad de parasitar fuertemente el borde de crecimiento de la concha, provoca deformaciones severas en los individuos parasitados además de estriaciones oscuras en el nácar, calcificaciones defectuosas, porosidad y pérdida de poros respiratorios, retraso en el crecimiento y mayor susceptibilidad a otras enfermedades (Oakes y Fields 1996). Se ha visto que tiene una capacidad de reproducción e infestación mayor a temperaturas altas (Finley y col 2001). Así lo confirma Simon y col (2004) en el que coinciden las altas intensidades de infestación por este sabélido con el alza de temperatura en el inicio de primavera. En Chile esta especie de poliqueto se encuentra identificada como agente causal de esta enfermedad (Godoy 2004). El retraso en el crecimiento también fué observado por Ruck y Cook (1998), quienes lo describen en un estudio en la costa oeste de Sudáfrica donde se notificó la existencia de grupos de abalones que no presentaban crecimiento, el examen de estos especímenes reveló que poseían una concha débil y propensa a quebrarse con innumerables y pequeñas perforaciones, este estado se asoció a parasitismo severo por poliquetos sabélidos.

En el Reglamento de Medidas de Protección, Control y Erradicación de Enfermedades de Alto Riesgo para las Especies Hidrobiológicas de Chile, se establece la Clasificación de Enfermedades de alto riesgo para los abalones de cultivo. En este Reglamento, la Sabelidosis (*T. heterouncinata*) ha sido clasificada como enfermedad de la Lista 1 (aquellas que se encuentran en el listado de enfermedades de declaración obligatoria ante la O.I.E.\*<sup>1</sup>, por no haber sido detectadas anteriormente o porque su distribución geográfica está restringida), lo que a futuro permitirá el desarrollo de medidas para su prevención y control (Aquanoticias 2003).

De los antecedentes anteriores y de la necesidad de conocer la distribución estacional de las enfermedades como causa de mortalidad del abalón en la fase de inicio de su engorda en sistemas en el mar, se establece como hipótesis que “el abalón rojo en su etapa de engorda en el mar presenta causas bacterianas y parasitarias de mortalidad que dependen de la estación del año”.

De acuerdo a la hipótesis enunciada, este estudio tiene por objetivo general el determinar las causas de mortalidad en el abalón rojo (*Haliotis rufescens*) en la etapa de engorda durante el periodo otoño e invierno en una empresa del sur de Chile.

Como objetivos específicos se planteó: 1. El determinar los signos clínicos de la mortalidad de los abalones. 2. Determinar las causas bacterianas de mortalidad y la sensibilidad de las bacterias aisladas a los antibióticos. 3. Determinar la presencia de parásitos protozoarios y poliquetos. 4. Determinar la presencia de micosis en los abalones muestreados entre los meses de abril y agosto 2003.

---

1\* Oficina Internacional de Epizootias.

## 4. MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio se realizó en un centro de producción de abalones ubicado en el sector de Ilque, distante 20 km de la ciudad de Puerto Montt, Décima Región.

### 4.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se extrajo un total de 203 ejemplares de abalón rojo (*H. rufescens*) en el inicio de su etapa de engorda en el mar. Las tallas se encontraban entre los 1,2 y 8,0 cm en su eje mayor. Los especímenes estaban siendo cultivados en un sistema de líneas de linternas, fabricadas de tambores plásticos de 200 l con ventanas de rejillas. La mortalidad fue extraída rutinariamente una vez por semana en forma manual.

### 4.2 MATERIAL DE LABORATORIO

Se utilizaron materiales del Laboratorio de Ictiopatología perteneciente al Instituto de Patología Animal y del Instituto de Zoología, ambos de la Universidad Austral de Chile (UACH) que se indican en Anexo 1.

### 4.3 MÉTODO

La metodología aplicada está basada en el protocolo de Procedimientos Estándares para el Diagnóstico de Enfermedades de Abalón (*Haliotis sp.*) (UACH y F. Chile 2003).

Se realizaron muestreos dirigidos a ejemplares moribundos y de mortalidad fresca de abalón rojo (*H. rufescens*) entre los meses de abril y agosto de 2003. Estas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Ictiopatología y en el Instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile, realizándose análisis anatomopatológicos, bacteriológicos y parasitológicos, respectivamente.

#### 4.3.1 Diseño experimental

Se diseñó una serie de actividades tendientes a pesquisar en esta población de abalones la mortalidad por causas infecciosas, que se detallan a continuación.

#### 4.3.1.1 Toma y envío de muestras

Se realizó un total de 6 muestreos, cada uno durante la primera semana de los meses de abril a agosto de 2003. Extrayéndose la mortalidad fresca, los moribundos o los ejemplares con alteraciones externas evidentes. Se tomaron aquellos que presentaron buena condición para análisis, esto es sin signos de autólisis.

Las muestras fueron extraídas de la unidad de cultivo y depositadas en bolsas Ziploc® rotuladas con la unidad de origen, posteriormente se introdujeron en cajas isotérmicas de poliestireno expandido (Isopack®), con material refrigerante (Gelpack®) y se despacharon al Laboratorio de Ictiopatología para su análisis el mismo día en que fueron extraídas.

Dada la frecuencia de extracción, esta mortalidad en oportunidades presentó un estado de descomposición que no lo hacía apto para análisis, por esto se eliminaron 3 individuos del muestreo N° 3 y 2 del muestreo N° 5; procesándose un total de 198 individuos (Tabla 1).

**Tabla 1. Distribución de la recepción y análisis de los muestreos realizados entre abril, mayo, junio, julio y agosto de 2003.**

N° Muestreo	Mes	Recepcionados	Analizados	Eliminados
1.	Abril	32	32	-
2.	Mayo	46	46	-
3.	Junio	15	12	3
4.	Julio	48	48	-
5.	Agosto	37	35	2
6.	Agosto	25	25	-
	Total	203	198	5

#### 4.3.1.2 Examen anatomopatológico

A las muestras obtenidas se les procedió a realizar examen anatomopatológico, en el cual se evaluó en forma macroscópica la anatomía externa e interna así como apariencia y signos de enfermedad. Se obtuvieron los parámetros morfológicos de peso y longitud, este último fue considerado en el eje mayor y menor de la concha y obtenido con un pie de metro estándar. El registro de peso de los individuos completos (cuerpo y concha), se realizó con una balanza electrónica de precisión, con sensibilidad de 0,01 g.

#### 4.3.1.3 Examen bacteriológico y antibiograma

Para el examen bacteriológico se realizó siembra por punción directa en los órganos con un asa de cultivo bacteriológico dentro de una cámara de flujo laminar. Los tejidos de elección utilizados fueron pie, glándula digestiva, hemolinfa y posibles lesiones, que se sembraron mediante estrías en medio TCBS. Se incubó por 36-48 h en estufa de cultivo a 20-25°C. En aquellas placas en que hubo crecimiento bacteriano, se aislaron las colonias puras y sembraron en medio TSA+NaCl al 2% (Protocolo en Anexo 2) a temperatura de incubación entre 20 y 25°C. A estos se les realizó Tinción de Gram, prueba de Oxidasa y crecimiento en medio de cultivo con NaCl al 6 y 8% y antibiograma.

La identificación se realizó mediante la aplicación de una batería bioquímica estándar.

El antibiograma fue aplicado a todas aquellas colonias desarrolladas en agar TSA+NaCl 2%. Para ello se utilizó como medio de cultivo Mueller Hinton + NaCl 2% (Protocolo en Anexo 2). Las concentraciones de los sensibilizadores se muestran en el Anexo 3. Los antibióticos utilizados fueron aquellos de mayor uso en la industria acuícola, como ácido oxolínico, oxitetraciclina, flumequina, florfenicol y sulfatrimetoprim.

#### 4.3.1.4 Examen parasitológico

Este examen se realizó para pesquisar dos tipos de parásitos de *H. rufescens*: Protozoos y Poliquetos. Para los primeros se efectuó la maceración de tejido blando, riñón y hepatopancreas, con el fin de observar formas larvales en fresco, utilizando microscopía con contraste de fase.

Para pesquisar poliquetos, cada una de las conchas de los abalones muestreados fueron puestas en envases de polietileno y etiquetadas. Se sometió cada concha a la acción de ácido nítrico al 5 %, en envases individuales de polietileno sobre una capa de algodón hidrófilo. Luego de finalizado este proceso, se procedió a su neutralización con una solución de sulfato de sodio al 5 % durante 12 h. Luego se retiró, se identificó y cuantificó la poliqueto-fauna presente en cada concha, previo lavado de la muestra con agua corriente. Para la identificación se contó con la colaboración del Profesor Carlos Bertrán perteneciente al Instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile.

#### 4.3.1.5 Examen micótico

Se procedió a examinar las lesiones externas tomando muestras de ellas para cultivo de hongos, utilizando agar Sabouraud. Luego se hizo un examen microscópico de las lesiones utilizando un microscopio de contraste de fases, para esto se consideró sólo aquellos individuos que presentaron lesiones externas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 EXAMEN ANATOMOPATOLÓGICO:

En la Tabla 2 se presentan los parámetros de peso y longitud de los abalones rojos (*H. rufescens*) por mes de muestreo.

**Tabla 2.- Peso promedio y diámetro mayor y menor de los ejemplares de abalón rojo (*Haliotis rufescens*) de cultivo colectados en bahía Ilque entre los meses de abril y agosto de 2003.**

Muestreos		Peso (g)			Diámetro menor (cm)			Diámetro mayor (cm)		
Mes	Total Indiv.	Min	Max	Prom	Min	Max	Prom	Min	Max	Prom
Abril	32	1,4	1,8	1,7	2,1	2,3	2,2	2,8	3,3	3,0
Mayo	46	1,5	2,4	1,9	1,7	1,9	1,8	2,9	3,2	3,0
Junio	12	1,0	8	1,6	1,4	3,9	1,6	2,1	4,5	3,1
Julio	48	0,6	3,3	1,5	1,8	3,6	1,9	0,6	4,9	2,9
Agosto	35	2,0	3,5	2,2	2,3	4,5	2,6	3,5	6,8	3,6
Agosto	25	1,0	4,5	1,4	1,9	6,0	2,5	3,0	8,1	4,6

Min = Mínimo; Max = Máximo; Prom = Promedio

La tabla indica que los pesos promedio y los diámetros menor y mayor de los abalones en los muestreo entre abril y julio, no presentaron una variación, en contraste con los muestreos 5 y 6 en agosto, donde los diámetros muestran un aumento.

La Tabla 3 resume los hallazgos externos encontrados en los abalones colectados en los 6 muestreos realizados.

**Tabla 3.- Hallazgos externos de los ejemplares de abalón rojo (*Haliotis rufescens*) de cultivo colectados en bahía Ilque entre los meses de abril y agosto de 2003.**

Muestreos	Concha sin cuerpo	Borde de concha quebrado	Canalículos en cara interna de la concha	Porosidad en cara externa de la concha
1. Abril	-	7	-	-
2. Mayo	14	-	1	1
3. Junio	-	7	3	3
4. Julio	4	9	5	-
5. Agosto	-	-	8	8
6. Agosto	-	-	7	7

En relación a los hallazgos externos destaca a partir del mes de mayo, la presencia de canalículos en la cara interna de la concha en todos los muestreos, así como un aumento de su frecuencia. Esta situación se puede observar también en los hallazgos de porosidad en la cara externa de la concha.

## 5.2 EXAMEN BACTERIOLÓGICO

De cada una de las muestras de tejido de pie, glándula digestiva, hemolinfa y lesiones de los abalones, se realizó un chequeo bacteriológico cuyos resultados se detallan en la Tabla 4.

**Tabla 4.- Crecimiento de colonias tipo *Vibrio* sp. desde pie, glándula digestiva, hemolinfa, así como lesiones, en medio de cultivo TCBS de las muestras obtenidas de abalón rojo (*Haliotis rufescens*) en bahía Ilque entre los meses de abril y agosto de 2003.**

Muestreos	Crecimiento de colonias en medio TCBS				Total colonias analizadas
	N° de aislados de pie	N° de aislados de glándula digestiva	N° de aislados de hemolinfa	N° de aislados de lesión	
1. Abril	5	3	4	0	12
2. Mayo	4	5	2	1	12
3. Junio	1	2	2	0	5
4. Julio	3	5	3	0	11
5. Agosto	5	2	2	0	9
6. Agosto	2	3	3	0	8
Total	20	20	16	1	57

Los aislados bacterianos fueron obtenidos de tejidos del pie correspondiendo a un 35% de los aislados, glándula digestiva con un 35%, hemolinfa con un 28% y lesiones externas un 2%, que corresponde a un aislado.

Los resultados del test bioquímico estándar y antibiograma realizados a estas colonias se presentan en la Tabla 5. Estas resultaron negativas a la tinción Gram, con metabolismo fermentativo, sensibles al vibriostático O129 y positividad a motilidad, fermentación y nitrato (MNF).

**Tabla 5. Resultados de las pruebas bioquímicas aplicadas a las cepas aisladas del género *Vibrio* en juveniles de abalón rojo (*H. rufescens*) muestreados entre abril y agosto de 2003.**

Cepas aisladas	Sacarosa	Lactosa	Salicina	Glucosa gas	Lisina	Ornitina	Arginina	ONPG	Citrato	VP	Indol	Rojo metilo	Gelatina	Oxidasa	Nitrato	6% Sal	8% Sal
1	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
2	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
3	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
4	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
6	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
7	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
8	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
9	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
10	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
11	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
13	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
14	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
15	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
16	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
17	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
18	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
19	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
20	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
21	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
22	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
23	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
24	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
25	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
26	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
27	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
28	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
29	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
30	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
31	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
32	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
33	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
34	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
35	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
36	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-

Cepas aisladas	Sacarosa	Lactosa	Salicina	Glucosa gas	Lisina	Ornitina	Arginina	ONPG	Citrato	VP	Indol	Rojo metilo	Gelatina	Oxidasa	Nitrato	6% Sal	8% Sal
37	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
38	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
39	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
40	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
41	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
42	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
43	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
44	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
45	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
46	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
47	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
48	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
49	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
50	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
51	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
52	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
53	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
54	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
55	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
56	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
57	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-

Una vez obtenidos los resultados del test bioquímico estándar, se procedió a realizar una identificación bioquímica de las bacterias aisladas, utilizando el Manual Bergey's. Los resultados se expresan en la Tabla 6.

**Tabla 6. Resultados de la identificación bioquímica de las cepas aisladas del género *Vibrio* desde juveniles de abalón rojo (*H. rufescens*) muestreados entre abril y agosto de 2003.**

<i>Vibrio</i>	Muestras						Total
	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto 1	Agosto 2	
<i>Vibrio tubiashii</i>	0	0	1	0	3	2	6
<i>Vibrio fisheri</i>	7	7	0	0	0	0	14
<i>Vibrio sp. 1</i>	4	2	0	0	0	0	6
<i>Vibrio sp. 2</i>	1	3	0	0	6	6	16
<i>Vibrio sp. 3</i>	0	0	2	0	0	0	2
<i>Vibrio sp. 4</i>	0	0	1	1	0	0	2
<i>Vibrio sp. 5</i>	0	0	1	1	0	0	2
<i>Vibrio sp. 6</i>	0	0	0	5	0	0	5
<i>Vibrio sp. 7</i>	0	0	0	1	0	0	1
<i>Vibrio sp. 8</i>	0	0	0	2	0	0	2
<i>Vibrio sp. 9</i>	0	0	0	1	0	0	1
Total	12	12	5	11	9	8	57

Se aislaron 11 especies diferentes de *Vibrio* de los cuales se pudo identificar 2, *Vibrio fisherii* y *Vibrio tubiashii*, el primero tiene una presentación en los 2 primeros muestreos (abril y mayo); en cambio el segundo en los 2 últimos muestreos en agosto. El aislado *Vibrio sp. 1* tiene una presentación similar a *V. fisherii*. *Vibrio sp. 2* tiene presentación al inicio y final del estudio. Los demás aislados de *Vibrio sp.*, desde el 3 al 9, sólo se observan en los meses de junio y julio.

A los aislados obtenidos se les realizó un antibiograma con sensidiscos de Oxitetraciclina, Ácido Oxolínico, Florfenicol, Flumequina y Sulfatrimetoprim, los resultados se expresan en la Tabla 7.

**Tabla 7. Resultados del antibiograma aplicado a las cepas aisladas de *Vibrio* de las muestras tomadas entre abril y agosto de 2003.**

Especie	Sensidisco				
	Ácido Oxolínico	Oxitetraciclina	Florfenicol	Flumequina	Sulfatrimetoprim
<i>Vibrio tubiashii</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio fisheri</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 1</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 2</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 3</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 4</i>	R	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 5</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 6</i>	M/S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 7</i>	S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 8</i>	M/S	S	S	S	S
<i>Vibrio sp. 9</i>	S	S	S	S	S

S = Sensible; MS = Medianamente sensible; R = Resistente

Como se observa en la Tabla 7, todas las cepas mostraron ser sensibles a los antibióticos, florfenicol, flumequina, sulfatrimetoprim y oxitetraciclina en un 100%, sólo el ácido oxolínico evidenció una resistencia en el aislado *Vibrio sp. 4* y medianamente sensible en los aislados *Vibrio sp. 6* y 8.

La medición de los halos de inhibición se detalla en Anexo 4.

### 5.3 EXAMEN PARASITOLÓGICO

Las 19 muestras obtenidas que presentaron algún grado de evidencia de parasitismo en su concha, tanto en su cara externa como interna, fueron analizadas. La identificación y cuantificación se detalla en la Tabla 8.

**Tabla 8. Identificación de la poliquetofauna asociada a las conchas de las muestras de *H. rufescens* tomadas entre abril y agosto de 2003.**

Abalón N°	Talla abalón (diámetros en cm)	Mes de Muestreo	Especie	Número de Parásitos
1	3,7 x 2,4	Mayo	<i>Dipolydora huelma</i>	2
2	3,8 x 2,8	Junio	<i>Dipolydora huelma</i>	17
3	2,9 x 2,0	Junio	<i>Dipolydora huelma</i>	4
4	4,0 x 3,2	Julio	<i>Dipolydora huelma</i>	24
5	3,8 x 3,0	Julio	S/P	-
6	2,8 x 2,1	Julio	<i>Dipolydora huelma</i>	3
7	4,2 x 3,1	Julio	<i>Dipolydora huelma</i>	40
8	3,5 x 2,5	Julio	<i>Dipolydora huelma</i>	2
9	3,5 x 1,8	Agosto 1	<i>Dipolydora huelma</i>	3
10	4,2 x 3,2	Agosto 1	<i>Dipolydora huelma</i>	22
11	4,5 x 2,9	Agosto 1	<i>Dipolydora huelma</i>	10
12	3,7 x 2,8	Agosto 1	S/P	-
13	6,8 x 4,4	Agosto 1	<i>Dipolydora huelma</i>	114
14	6,9 x 5,0	Agosto 1	<i>Dipolydora huelma</i>	249
15	7,3 x 6,1	Agosto 2	A/A	-
16	5,2 x 3,5	Agosto 2	A/A	-
17	7,4 x 6,0	Agosto 2	<i>Dipolydora huelma</i>	138
18	6,8 x 4,7	Agosto 2	<i>Dipolydora huelma</i>	259
19	8,1 x 6,0	Agosto 2	<i>Dipolydora huelma</i>	155

S/P =Sin Parásitos; A/A = Autólisis avanzada

De estos datos se puede destacar el aumento del número de los parásitos poliquetos encontrados en las muestras de abalón tomadas en el segundo muestreo de agosto 2003.

No se observó presencia de formas protozoarias en hepatopancreas y riñón de los abalones muestreados.

### 5.4 EXAMEN MICÓTICO

Se analizó una muestra con sospecha de micosis superficial a nivel de pie y manto. Luego de realizar el cultivo en medio Sabouraud no se obtuvo crecimiento.

## 6. DISCUSIÓN

Al comparar la industria acuícola nacional, en especial la Salmonicultura y su grado de desarrollo y conocimiento alcanzado, tanto productivo como sanitario, existe una gran diferencia con el cultivo del abalón rojo (*H. rufescens*), el que se encuentra en una etapa temprana de desarrollo. A este respecto es necesario realizar investigación en las áreas de las enfermedades y la alimentación, para facilitar el posicionamiento del abalón chileno como un producto de calidad superior y con alto valor agregado, diferente al de otros países productores (Pérez 2004).

Respecto de las enfermedades que se han detectado a nivel nacional, se incluyen agentes en su mayoría bacterianos y parasitarios. Entre estos últimos, el mayor impacto está relacionado con organismos que afectan la concha del abalón (Godoy 2003). A medida que se ha incrementado la intensidad de cultivo se han detectado además diversas enfermedades, que requieren del estudio y desarrollo de medidas sanitarias para evitar la propagación de las mismas (Godoy 2003). Estas medidas deben estar orientadas a la prevención de las enfermedades que ponen en riesgo la producción y su diseminación a otras zonas geográficas donde pudieran emplazarse estos cultivos.

En este estudio se recibieron muestras de abalón rojo (*H. rufescens*) entre los meses de abril y agosto de 2003, que correspondieron a ejemplares moribundos o de mortalidad fresca. Al realizar la medición de los parámetros anatómicos como longitud y peso, se observa que no hay un aumento entre los meses de abril a julio. Esto contrasta con lo descrito en cuanto a que se debe esperar un incremento promedio de 1,5 a 2,0 mm de longitud por mes (Mgaya 1995). Este resultado puede explicarse por la mala nutrición de los especímenes en estados de enfermedad, como lo revela un estudio realizado en Baja California, donde individuos sanos de abalón rojo (*H. rufescens*) tenían un mayor desarrollo que los especímenes moribundos (Cáceres 2001). Se puede comentar que en el momento del muestreo, se apreció una diferencia en tamaño notable respecto de los abalones sanos, aún cuando a estos no se les realizó una medición de peso y longitud. Hay que considerar también que se ha descrito que poblaciones infestadas por *Polydora sp.* evidencian una disminución en el crecimiento y una marcada debilidad de la concha (Godoy 2003).

El examen anatomopatológico de los abalones muestreados reveló que un 9,6% del total de abalones muestreados entre abril y agosto 2003 presentaron problemas externos relacionados con la concha, como bordes quebrados, estrías de coloración oscura en la cara interna de diferentes longitudes y porosidad en la cara externa.

El estudio bacteriológico fue dirigido para pesquisar bacterias mesófilas aerobias utilizando un medio de cultivo como el TCBS en los que se desarrollan bacterias del género *Vibrio*, para su identificación además se utilizó una batería bioquímica estándar recomendada por el Manual de Bergey's (Baumann y Schubert 1984).

Se identificaron 2 aislados como *Vibrio fisheri* y *Vibrio tubiashii*. Además se obtuvo 9 aislados que no fue posible identificar debido a que no hubo coincidencia en los resultados obtenidos de las pruebas realizadas con lo descrito en el Manual de Bergey's (Baumann y Schubert 1984). Esto se explica porque la identificación de bacterias del género *Vibrio* según lo descrito por Alsina y Blanch (1994) y Faune (2003) presentan cierta dificultad por su gran diversidad de especies, por lo que es recomendable la utilización de técnicas más avanzadas de identificación como la secuenciación genética.

El género *Vibrio* se encuentra entre las bacterias con mayor impacto en el abalón, ya que presenta un alto número de especies que interactúan ya sea como una relación simbiótica marcada desde la etapa juvenil del abalón como *Vibrio halioticoli* el que se describe como la especie dominante dentro de la flora intestinal normal del abalón japonés (*Haliotis discus hannai*) (Tanaka y col 2002, 2003) o como causantes de enfermedades, ya que se ha informado de Vibriosis en larvas y juveniles en condiciones de cultivo intensivo de moluscos en la etapa de hatchery y también en condiciones naturales (Anguiano y col 1998). Estas infecciones se han reportado tanto en abalón rojo *H. rufescens* (Elston y Locwood 1993) como en abalón azul (*Haliotis fulgens*) (Cáceres 2000). Faune (2003) también concluye que las principales causas de mortalidad bacteriana en post larvas de abalón rojo (*H. rufescens*) en un hatchery del sur de Chile son causadas por bacterias del género *Vibrio*, específicamente por las bacterias *Vibrio vulnificus*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio fisheri* y *Vibrio splendidus* II.

Los resultados de la presentación de *V. fisheri* y *Vibrio sp. 1* en este estudio destaca por ser exclusivamente en los 2 primeros meses de muestreo, abril y mayo de 2003. En cambio *V. tubiashii* y *Vibrio sp. 2* en los 2 muestreos del mes de agosto de 2003, Los aislados de *Vibrio sp. 3* al 9, sólo se encontraron en los meses de junio y julio. Esto pudiera indicar una asociación con la temperatura del agua, cuando ésta comienza a disminuir a inicio de otoño en el primer caso y cuando va en aumento a inicio de primavera en el segundo, estos datos coinciden con los obtenidos por Lee (2001) en Taiwán en el que se estudió un episodio de altas mortalidades de juveniles de *Haliotis diversicolor*, que resultaron más susceptibles a la acción de *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio parahaemolyticus*, debido a un alza de temperatura. Faune (2003) también describe que la temperatura sería un factor que permitiría el crecimiento de bacterias del género *Vibrio* en el área de Calbuco, al igual que Riquelme y col (2001) quienes indican que estas especies bacterianas no sólo pueden provocar enfermedad si no también causar mortalidad en abalones, con una influencia estacional dada en temperaturas más cálidas.

El antibiograma realizado a los aislados obtenidos revela que a excepción de *Vibrio sp.* (aislado 4) que fue resistente a ácido oxolínico y *Vibrio sp.* (aislados 6 y 8) que fueron medianamente sensibles también a ácido oxolínico, presentan sensibilidad a la mayoría de los antibióticos utilizados actualmente en la industria acuícola.

En cuanto a parasitismo, los datos obtenidos en este estudio, indican un 100% de identificación de *Dipolydora huelma* en los abalones colectados entre julio y agosto, no existiendo antecedentes de este parásito en abalones a la fecha, sólo se tiene registros de casos presentados en Ostiones en el norte del país (Godoy 2004. Comunicación personal)\*<sup>2</sup>.

Se observó que la concha de los abalones más grandes tenían un grado mayor de infestación por parásitos. Esto puede explicarse por una mayor superficie de exposición a las infestaciones por parásitos que pueden dañar la concha. También por causas traumáticas, golpes o aplastamientos al momento de realizarse los manejos como alimentación, extracción de mortalidad o muestreos. Se observó al momento de extraer los abalones que bajo la presión ejercida para su desprendimiento se les produjo una fractura de la concha.

Cabe destacar que los sistemas utilizados por esta empresa, de barriles plásticos con ventanas de rejillas suspendidas en la columna de agua, tienen la desventaja de restringir un recambio de agua adecuado, lo que aumenta las posibilidades de retención de estados larvales del poliqueto. A esta situación se puede sumar la condición de densidad de cultivo, la que se tiende a incrementar para hacer más eficiente los sistemas de cultivo intensivo, aumentando con ello la probabilidad de encuentro entre el abalón y el gusano poliqueto (Godoy 2004).

En cuanto a su presentación, destaca el hecho que los abalones que evidenciaron un mayor parasitismo eran aquellos que se encontraban en tallas superiores al promedio de la muestra y que no presentaron deformaciones de concha, sólo una mayor fragilidad a la acción mecánica. En los resultados del mes de agosto se observa un aumento en el número de parásitos en cada abalón. De esto se desprende una relación entre la superficie de la concha, el tiempo de exposición y grado de infestación del abalón. Esto puede explicarse por la época del año en la que la temperatura comienza a aumentar y porque los abalones tienen más tiempo expuestos al parásito en el mar.

Estos resultados son coincidentes con lo descrito por Godoy (2003) quien ha descrito que el poliqueto *Polydora sp.* daña la cara externa de la concha y puede llegar a la interna generando estrías bajo el nácar debilitando la concha y predisponiendo a rupturas e infecciones secundarias, además provoca una disminución del crecimiento del abalón, también puede manifestarse en infestaciones leves y de baja intensidad provocando un daño menor a los abalones (Godoy 2004). Kojima e Imajima (1982) han descrito problemas por infestaciones severas por *Polydora sp.* en *H. diversicolor aquatilis* con fuertes pérdidas en rendimiento cárnico.

---

\* Marcos Godoy  
M.V. Fundación Chile

Las condiciones de cultivo son un factor predisponente importante, considerando la capacidad de infestación del parásito frente a diferentes condiciones ambientales como corrientes y tipos de fondos, mostrando preferencia por individuos preinfestados (Tinoco y Cáceres 2003).

Dentro de las muestras analizadas para identificación de poliquetofauna en este estudio, no se encontró la presencia de *Terebrasabella heterouncinata*, descrita anteriormente, dentro de la variedad de poliquetos que parasitan al abalón. Esto puede indicar que la bahía Ilque se encuentra libre de la presencia de este sabélido. Respecto de su distribución, no se cuenta con información oficial, pero se han diagnosticado casos tanto en el norte como el sur de Chile (Godoy 2004. Comunicación Personal)\*<sup>2</sup>.

Friedman y col. (1995) reportaron que *Margolisiella haliotis*, protozoo causante de la Coccidiosis del Abalón, en las especies *Haliotis cracherodii*, *H. rufescens*, *H. walallensis*, *H. fulgens*, *H. corrugata* y *H. kamtschatkana* provoca en los abalones una degeneración de los tejidos blandos. Otro protozoo patógeno, *Perkinsus olseni*, detectado en *Haliotis rubra* y *H. laevigata*, que se manifiesta formando pústulas de color amarillo, nódulos en músculo y en la base de la branquias, causó mortalidades importantes en Australia (Cáceres 2000). Si bien estos no fueron detectado en este estudio y no se encontraron lesiones características en los abalones analizados, la ausencia de protozoos asociados a hepatopáncreas y riñón de los abalones muestreados, puede deberse a una falla en la técnica diagnóstica, basada solo en la observación microscópica de frotis en fresco de tejido renal y hepatopáncreas (Bower 2004) y que además no se realizó un análisis histológico.

También se ha descrito como patógeno al hongo *Haliphthorous milfordensis* quien puede causar daño en casos severos a nivel de manto y pié en otras especies de abalones como *Haliotis sieboldii* y *Haliotis virginea virginia* (Hatai 1982, Bower 2004). Friedman y col (1997) describen aislamientos de hongos en la concha de *Haliotis iris* y *H. australis*. Estos agente no fueron aislados de las muestras de abalón recepcionadas, no existiendo a la fecha estudios al respecto.

Finalmente este estudio aporta nueva información que será de utilidad para orientar el diagnóstico de enfermedades, en el inicio de la etapa de engorda en el mar del abalón rojo en el periodo de otoño e invierno.

---

\*<sup>2</sup> Marcos Godoy  
M.V. Fundación Chile

## 7. CONCLUSIONES

La mortalidad asociada a la presencia de bacterias del género *Vibrio* (*V. tubiashii* y *V. fisheri*) y a la presencia de parásitos poliquetos (*Dipolydora huelma*) en abalones cultivados en el mar, tienen una presentación estacional dentro del período en estudio.

*V. tubiashii*, *V. fisheri* y *Vibrio sp* aislados 1 y 2, presentan una estacionalidad hacia los meses de temperaturas más cálidas dentro del período en estudio.

La mortalidad de abalones por parasitismo de *Dipolydora huelma*, gusanos poliquetos que afecta la concha de los abalones, presenta una estacionalidad marcada hacia el último mes de muestreo.

De las conclusiones se acepta la hipótesis enunciada, ya que el abalón rojo en su inicio de la etapa de engorda en el mar, presenta causas bacterianas y parasitarias de mortalidad que dependen de la estación del año.

## 8. BIBLIOGRAFIA

Acevedo M, Campos M. 2000. Situación legal del abalón en Chile. En: Seminario: El cultivo del abalón en Chile, situación actual y perspectivas, Fundación Chile. Puerto Montt, Chile.

Alsina M, Blanch A. 1994. Improvement and update of a set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *J. Applied Bact.* 77: 719-721.

Anguiano B, Searcy C, Lizárraga M. 1998. Pathogenic effects of *Vibrio alginolyticus* on larvae and postlarvae of the red abalone *Haliotis rufescens*. *Dis. Aquatic Org.* 33: 119-122.

Aquanoticias Internacional. 2003. Fotografía de una industria cautivante. 112: 32-40.

Baumann P, Schubert R. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol I. Williams & Wilkins, Baltimore.

Bautista C. 1989. Moluscos, Tecnología de Cultivo. Editorial Mundi-Prensa, Madrid España pp. 54-55 y 143-144.

Bower S. 2004. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Fungal Diseases of Abalone.

URL: [http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/sci/shelldis/pages/fungusab\\_e.htm](http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/sci/shelldis/pages/fungusab_e.htm)

Cáceres J. 2000. Enfermedades de los abalones. En: Seminario: El cultivo del abalón en Chile, situación actual y perspectivas, Fundación Chile. Puerto Montt, Chile.

Cáceres J. 2001. Symbionts of cultured red abalone *Haliotis rufescens* from Baja California, México. *J. fish. dis.* 20: 875-881.

Department of Fish and Game. 1995. California abalone. Technical Bulletin. The Resources Agency. State of California.

Elston R, Lockwood G. 1993. Pathogenesis of vibriosis in cultured juvenile red abalone, *Haliotis rufescens* Swainson. *J. fish. dis.* 6: 111 – 128.

Faune C. 2003. Principales causas de mortalidad bacteriana en los primeros estadios de desarrollo del abalón rojo (*Haliotis rufescens*). *Memoria de titulación*. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Finley C, Mulligan T, Friedman C. 2001. Life history of an exotic Sabellid Polychaete, *Terebrasabella heterouncinata*: Fertilization strategy and influence of temperature on reproduction. *J. fish. dis.* 20:883-888.

- Flores R. 2004. La industria de acuicultura de abalones mundial y el caso chino. En: II Conferencia Internacional Aquasur 2004. Puerto Montt, Chile.
- Friedman C, Gardener G, Hedrik R, Stephenson M, Cawthorn R, Upton S. 1995. *Pseudoklossia haliotis* sp. (Aplicomplexa) from kidney of California abalone, *Haliotis* spp. (Mollusca). *J. Invertebr. Path.* 66:33-38.
- Friedman C, Grindley R, Keogh J. 1997. Isolation of a fungus from shell lesions of New Zealand abalone, *Haliotis iris* Martyn and *H. australis* Gmelin. *Molluscan Research*. 18:313-324
- Gibson L, Woodworth F, George A. 1998. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii*. *Aquaculture*. 169: 111-120.
- Godoy M. 2003. Major Diseases Encountered in Japanese Abalone (*Haliotis discus hannai*) and Red Abalone (*Haliotis rufescens*) reared in Chile. 5th International abalone Symposium, Quindao, China.
- Godoy M. 2004. Manejo Sanitario del abalón en Chile. En: II Conferencia Internacional Aquasur 2004. Puerto Montt, Chile.
- Godoy R, Jerez G. 1998. The introduction of Abalone in Chile: Ten years later. *J. fish. dis.* 17: 603-605.
- Hahn K. 1989. Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press.
- Hatai K. 1982. On the fungus *Haliphthorus milfordensis* isolated from temporarily held abalone (*Haliotis sieboldii*). *Fish Pathology*. 17:199-204.
- Kojima H, Imajima M. 1982. Burrowing polychaetes in the shells of the abalone *Haliotis diversicolor aquatilis* chiefly on the species of *Polydora*. *Bull. Jap. Soc. Scient Fish.* 48: 31-35
- Lee K. 2001. The implication of ambient temperature with the outbreak of Vibriosis in cultured small abalone *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke. *Journal of Thermal Biology*. 26: 585-587.
- Mgaya Y. 1995. Synopsis of Biological Data on the European Abalone (ORMER), *Haliotis tuberculata* Linnaeus, 1758 (Gastropoda: *Haliotidae*). FAO Fisheries Synopsis. 56:28.
- Oakes F, Fields R. 1996. Infestation of *Haliotis rufescens* shells by a Sabellid Polychaete. *Aquaculture*. 140: 139 – 140.

- Olivares J. 2004. Competitividad en la producción y exportación del Abalón: un enfoque de atracción de inversiones para Chile. En: II Conferencia Internacional Aquasur 2004. Puerto Montt, Chile.
- Pérez C. 2004. La Industria del Abalón en Chile. En: II Conferencia Internacional Aquasur 2004. Puerto Montt, Chile.
- Riquelme C, Rodríguez L, Rojas A. 2001. *Vibrio parahaemolyticus* primer reporte en Chile (Antofagasta, II Región) durante la presencia del fenómeno del Niño. Red sobre el Impacto Biológico de eventos “El Niño” de Investigación RIBEN. Universidad de Antofagasta.  
URL: <http://www.uantof.cl/riben/CRIQUELME.htm>
- Rivera M, Illanes J. 2000. El cultivo del abalón en Chile. En Seminario: El Cultivo del Abalón en Chile, Situación Actual y Perspectivas, Fundación Chile. Puerto Montt, Chile.
- Rivera M, Poblete A. 2001. Tecnología del cultivo de abalón en Chile. Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias del Mar.
- Ruck K, Cook P. 1998. Sabellid Infestation in the shell of South African molluscs: Implications for abalone mariculture. *J. fish. dis.* Vol. 17, No 3, 693-699.
- Simon C, Kaiser H, Britz P. 2004. Infestation of the abalone, *Haliotis rufescens*, by the sabellid, *Terebrasabella heterouncinata*, under intensive culture conditions, and the influence of infestation on abalone growth. *Aquaculture*. 232:29-40.
- Tanaka R, Sawabe T, Yoshimizu M, Ezura Y. 2002. Distribution of *Vibrio halioticoli* around an Abalon-farming Center in Japan. *Microbes and Environments*. 17: 6-9.
- Tanaka R, Sugimura I Sawabe T, Yoshimizu M, Ezura Y. 2003. Gut microflora of abalone *Haliotis discus hannai* in culture changes coincident with a change in diet. *Fisheries Science*; 69:951-958.
- Tinoco G, Cáceres J. 2003. Infestation of the clam *Chione fluctifraga* by the burrowing worm *Polydora sp.* in laboratory conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*. 83:196-205.
- Universidad Austral de Chile, Fundación Chile. 2003. Procedimientos Estándares para el Diagnóstico de Enfermedades del Abalón (*Haliotis sp.*). Proyecto Fondef DO1 I 1074, pp. 32.
- Ureta M. 2000. Alimento para Abalones. En: Seminario: El cultivo del abalón en Chile, Situación actual y perspectivas, Puerto Montt, Chile.
- Viana M. 2001. Cultivo del Abalón *Haliotis spp.* Apuntes de clases. Universidad Austral de Chile. Instituto de Acuicultura.

Ziomi A. 2000. Aspectos comerciales de los cultivos de abalones. En: Seminario: El cultivo del abalón en Chile, Situación actual y perspectivas, Puerto Montt, Chile.

## 9. AGRADECIMIENTOS

A Proyecto FONDEF D0111074 “Desarrollo de nuevas técnicas para la prevención y control de enfermedades infecciosas y no infecciosas en los cultivos de abalón” por financiar esta tesis.

Al Dr Ricardo Enriquez, Sra. Mónica Monrás, Vania Quinteros y Esteban Henriquez por el apoyo técnico a este estudio y a mi familia y esposa por apoyo y comprensión en esta etapa.

## 10. ANEXOS

### ANEXO 1

#### MATERIALES DE LABORATORIO

1. Pié de metro
2. Balanza electrónica (sensibilidad 0,01 g)
3. Lupa de disección
4. Placas petri
5. Material de disección
6. Agar TSA+NaCl al 2,0%, TCBS+NaCl al 2,0%, agar Mueller-Hinton+NaCl al 2,0% y Agar Sabouraud.
7. Asas de platino
8. Mechero
9. Toalla Nova
10. Alcohol al 95%
11. Baterías bioquímicas y Reactivos
12. Incubador a 25°C
13. Refrigerador para la mantención adecuada de los reactivos y tubos de ensayo con los medios necesarios para la identificación bacteriana (pe. Indol)
14. Cámara de flujo laminar para la preparación de los medios de cultivo
15. Autoclave para la esterilización de los materiales a utilizar
16. Pipetas de vidrio graduadas
17. Micropipetas de 1000 µl
18. Horno de microondas
19. Colorantes para tinción de Gram
20. Mortero de porcelana
21. Portaobjetos
22. Microscopio óptico
23. Aceite de inmersión
24. Sensidiscos
25. Pinza anatómica
26. Matraz de Erlenmeyer
27. Acido Nítrico al 5%
28. Solución de Sulfato de Sodio al 5%
29. Algodón hidrófilo
30. Lupa de disección

## ANEXO 2

### MEDIOS Y PRUEBAS UTILIZADOS PARA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

#### **Agar Soya Trypticase (Agar TSA + NaCl al 2% concentración final):**

Agar TSA (Trypticase Soy Agar)  
Peptona Trypticase: 15 g  
Peptona phytone: 5 g  
NaCl(0,5%): 5 g + 15 g de NaCl adicional  
Agar: 15 g  
Agua destilada: 1000 ml  
pH: 7,3±0,1

Disolver y ajustar pH. Esterilizar 15 minutos a 121° C. Dejar enfriar a 50° C y verter en placas. Dejar solidificar y guardar en forma invertida las placas a temperatura ambiente a 4° C.

#### **Agar TCBS + NaCl al 2%:**

Peptona de caseína: 5,0 g  
Peptona de carne: 5,0 g  
Yeast extract: 5,0 g  
Citrato de sodio: 10,0 g  
Tiosulfato de sodio: 10,0 g  
O x Bilis: 5,0 g  
Sodium cholate: 3,0 g  
Sucrosa: 20,0 g  
Cloruro de sodio al 1%: 10,0 g + 10,0 g de NaCl  
Citrato: 1,0 g  
Thymol blue: 0,04 g  
Bromothymol blue: 0,04 g  
Agar- agar: 14,0 g  
pH: 8,6 ± 0,2 a 25°C

No autoclavar

Las placas son de color azul verdoso claras.

**Agar Mueller- Hinton + NaCl al 2%:**

Extracto de carne: 5,0 g  
Hidrolizado de carne: 17,5 g  
Almidón: 1,5 g  
Agar: 12,5 g  
Cloruro de Sodio: 10 g  
Agua destilada: 1000 ml

Adicionar 10 g de NaCl para obtener una concentración final al 2%.  
Disolver y ajustar pH a 7,4. Esterilizar a 115° C por 10 minutos. Disponible en forma comercial.

**Agar Sabouraud**

Es un medio de cultivo sólido, específico para hongos, compuesto por:

Peptona de caseína 5,0 g/l  
Peptona de carne 5,0 g/l  
D (+) Glucosa 40,0 g/l  
Cloranfenicol 0,5 g/l  
Agar – agar 15,0 g/l  
pH del medio a punto de uso: 5,6 aproximadamente

Suspender 65,5 g de la mezcla en un litro de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar al autoclave durante 10 minutos a 121°C. Evitar el sobrecalentamiento que afectaría a la gelificación.

**Sensibilidad a O/129 (150 ug):**

Es un vibriostático compuesto de 2,4-diamino-6,7 diisopropilpteridin.  
Medio diferencial entre *Aeromonas sp* y *Vibrio sp*. Estos últimos son sensibles.

En una placa de TSA + NaCl al 2% se hacen 2 líneas de crecimiento y en una de ellas se colocan los discos de O/129. También se pueden agregar cuando se hace el antibiograma

Incubar por 16 a 18 horas

Halo mayor o igual a 4 mm diámetro = altamente sensible  
Halo menor o igual a 2 mm diámetro = parcialmente sensible  
Ausencia de halo = resistente

## ANEXO 3

## PROTOCOLO DE ANTIBIOGRAMA

Antibióticos	Halo de Inhibición (mm)			
	Concentración (µg)	Resistente	Poco Resistente	Sensible
Ácido Oxolínico	2	<10	11	>12
Oxitetraciclina	30	<14	15-18	>19
Flumequina	30	<21	21-26	>26
Sulfatrimetoprim	25	<10	11-15	>16
Florfenicol	25	≤16	17-20	>21

> = Mayor; < = Menor; ≤ = Menor o igual.

## ANEXO 4

## ATIBIOGRAMA DE LOS AISLADOS

Especie	Halo de inhibición (mm)				
	Acido Oxolínico	Oxitetraciclina	Florfenicol	Flumequina	Sulfatrimetoprim
Vibrio tubiashii	13	20	22	28	19
Vibrio fisheri	14	21	23	27	16
Vibrio sp. 1	12	20	21	28	17
Vibrio sp. 2	13	23	22	29	16
Vibrio sp. 3	12	22	23	26	18
Vibrio sp. 4	8	22	23	29	19
Vibrio sp. 5	13	23	24	28	20
Vibrio sp. 6	11	21	25	27	18
Vibrio sp. 7	12	20	23	28	20
Vibrio sp. 8	11	22	21	28	17
Vibrio sp. 9	13	21	23	27	17