

**Universidad CEU Cardenal Herrera
CEINDO – CEU Escuela Internacional
de Doctorado**

PROGRAMA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA SALUD



CEU

*Escuela Internacional
de Doctorado*

**Patología en signátidos y
cnidarios**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Estefanía Montero Cortijo

Dirigida por:

Dr. D. Juan Manuel Corpa Arenas

Dr. D. Joaquín Ortega Porcel

VALENCIA
2022

Facultad de Veterinaria

**Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y
Ciencia y Tecnología de los Alimentos**

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

Los Dres. D. JUAN MANUEL CORPA ARENAS y D. JOAQUÍN ORTEGA PORCEL, como directores de la tesis doctoral realizada por la doctoranda Dña. ESTEFANÍA MONTERO CORTIJO, titulada **“Patología en signátidos y cnidarios”**, autorizamos la presentación de la citada tesis doctoral, puesto que reúne las condiciones necesarias para su defensa

En Alfara del Patriarca, a 24 de noviembre de 2022.

Los directores de la Tesis.



Fdo. Dr. D. Juan Manuel Corpa Arenas



Fdo. Dr. D. Joaquín Ortega Porcel

A mi familia

Agradecimientos

En mi opinión, esta ha sido la parte más difícil de escribir del manuscrito de la tesis doctoral. Tengo mucho que agradecer y me da la sensación de que un “gracias” no es suficiente. Hay muchísima gente que ha participado en esto, a nivel académico y personal, y si no fuera por todas esas personas, lo más probable es que no hubiera llegado hasta aquí. En primer lugar, quiero agradecer a la Universidad CEU Cardenal Herrera y al Vicerrector de Investigación, Ignacio Pérez, por haberme concedido la beca predoctoral que consistía en un programa mixto de tesis doctoral y residencia, de una duración de cuatro años. Gracias Nacho, porque soy consciente de que me has apoyado y has confiado en mí desde el primer momento. Es la primera vez en la Universidad CEU que se concede este tipo de beca y estoy muy agradecida de haberla disfrutado. A mis directores de tesis, Juan Manuel Corpa y Joaquín Ortega, infinitas gracias. No hubiera sido posible si ellos no hubieran propuesto la plaza de tesis doctoral y residencia y, por supuesto, si no me hubieran elegido a mí. Gracias por confiar en mí, ayudarme y enseñarme a crecer de manera académica y personal. Juan Manuel, gracias por enseñarme que la vida es esfuerzo y dedicación, y que si algo te apasiona hay que luchar para conseguirlo. Joaquín, gracias por transmitirme tu pasión por la patología. He tenido la suerte de aprender de uno de los mejores Diplomados en Patología Veterinaria y me siento afortunada de poder seguir formándome contigo y con el resto del equipo. Gracias por la paciencia y dedicación. Para mí fue un momento clave al inicio de quinto de carrera cuando me dijiste que hiciera lo que hiciera siempre iba a ser bienvenida al equipo. Los dos, Juan Manuel y Joaquín, gracias por escucharme y, a veces, hacer de psicólogos cuando tenía mis inseguridades, problemas o preocupaciones. Por supuesto, el resto del equipo de anatomía patológica no se queda atrás. David Viana, gracias por formar parte de mi formación en la residencia, ayudarme, escucharme y aconsejarme como profesional y amigo durante estos años (también has hecho un poco de psicólogo...). He aprendido mucho de ti y estoy convencida de que me seguirás aportando mucho como

patólogo. Laura Selva, a pesar de que no hemos coincidido mucho, también has formado parte de mi recorrido y formación, muchas gracias. Agustín Barragán, eres el primero que confió en mí desde tercero de carrera, a pesar de que no hubiera forma de aprenderme “hipostasia cadavérica”. Gracias por ayudarme desde el primer momento, como profesor, patólogo y amigo, acompañándome en mis decisiones desde que era una alumna.

Entre unas cosas y otras, he estado en el equipo desde tercero de carrera como alumna colaboradora (hubiera sido desde segundo, pero no me seleccionasteis...). Al final, llevo 9 años formando parte de este equipo. Para mí, aparte de jefes o compañeros, sois familia. Gracias a cada uno de vosotros, esto no acaba aquí y puedo seguir en el team AP.

Sandra Núñez, compañera y amiga desde la carrera, gracias, hemos compartido todo tipo de momentos y no dudo que esto ya es para siempre. Jorge Rosell, gracias por todo lo que me enseñaste cuando estuviste en la Universidad y por darme la oportunidad de aprender de ti. Gracias por el esfuerzo, la dedicación y la participación del artículo publicado sobre medusas, del que forma una pequeña parte de mi tesis doctoral. En mis años en el equipo han pasado varios técnicos de laboratorio y quería agradecer la dedicación y el aprendizaje que me han trasladado. Gracias Laura Núñez por enseñarme desde alumna las técnicas del laboratorio (procesado, tinciones especiales, inmunohistoquímica, etc.) pero sobre todo gracias por estar siempre a mi lado. Gracias a Brenda Palomar porque fue un gran apoyo en mi año como interna de anatomía patológica. Y, por supuesto, a Elisabeth Blat, gracias por ayudarme con el procesado de las muestras de la tesis o en mi trabajo habitual (como una vez que hicimos la necropsia de un caballo entre las dos). A parte de eso, es la persona que en estos dos últimos años ha tenido una inmensa paciencia y me ha escuchado y ayudado sin dudarle. Has sido uno de los pilares más importantes en estos últimos años y gracias a ti, las épocas más duras no han sido tan duras. Infinitas gracias de corazón. Otras personas que no han

pasado desapercibidas estos años son Jaume Alomar, un gran amigo. Las becarias de investigación, por todos los momentos divertidos en la Universidad y en congresos. Los veterinarios clínicos y trabajadores del Hospital Veterinario CEU, que han formado parte de que los días fueran más agradables en mi “zulo”. Por otra parte, tampoco quiero dejar de agradecer a Clara Marín, Laura Montoro y Sandra Sevilla. Aprendí mucho de microbiología y trabajo en equipo, pero realmente lo que me llevo y lo importante para mí es la amistad que, a pesar de que yo elegí otro camino, sigue presente hoy.

En mi tesis doctoral han participado muchas personas. En primer lugar, quiero agradecer a todos los veterinarios clínicos de los acuarios, Oceanogràfic (Valencia), Aquarium Finisterrae (A Coruña) y Atlantis Aquarium (Madrid), que han confiado en nosotros para el diagnóstico de los signátidos. Quiero hacer una mención especial a José Luis Crespo, Carlos Rojo y Marta Muñoz por vuestra ayuda y amistad que, actualmente, mantenemos. Agradecer al equipo de Anatomía Patológica Veterinaria de Lugo por permitirme realizar una estancia corta con ellos en el principio de mi formación. Gracias por enseñarme patología en peces y técnicas especiales, además de que fue una estancia muy especial por la compañía de Marta Muñoz. Gracias a la recomendación de Maribel pude conocer al parasitólogo Paco Montero, una excelente persona, y a todo su equipo donde realicé la estancia de un mes de mi tesis doctoral. Gracias a Paco he podido caracterizar mejor a los agentes parasitarios de mi tesis. Me siento agradecida de toda la formación y dedicación que me has prestado. También quiero agradecer a José Francisco Palacios por la formación en técnicas moleculares. Gabriela Van Beest por ayudarme con el análisis parasitológico en caracoles. Ana Born y todos los profesionales del Institute of Parasitology de Ceske Budejovice (República Checa) por la realización de las técnicas moleculares para mixozoos. Por otra parte, agradecer también a Valentín Pérez y Miguel Fernández, de la Universidad de León, por la realización de las técnicas moleculares para micobacterias. Al igual

que Antonio Juan García e Isabel Tox, de la Universidad de Murcia, por la realización del análisis toxicológico. Mi última estancia corta la realicé en la Universidad San Pablo de Madrid junto con el equipo de parasitología. Gracias a Angela Magnet y Lucianna Vaccaro por la formación en pruebas moleculares para la identificación de microsporidios. Como he plasmado aquí, mucha gente ha formado parte de esto y ha hecho que esta tesis doctoral tenga mucho más peso y valor.

Siempre voy a quedarme con la parte positiva de todo este recorrido, el cual no me arrepiento para nada. Sin embargo, también tengo que destacar que no ha sido fácil, ha sido un camino duro y repleto de inseguridades. Todo esto ha sido más fácil sobrellevarlo por la cantidad de personas que están a mi alrededor todos los días. Mi familia y amigos que han hecho que todo sea mucho más fácil y llevadero. Mi madre, mi persona vitamina, infinitas gracias por apoyarme, escucharme, levantarme, cuidarme y enseñarme. Gracias por aconsejarme y hacerme ver que este era mi camino. Te quiero, mamá. Esta tesis doctoral es para ti. Mi hermana, mi otra mitad, al igual que mamá has sido y eres un pilar fundamental en mi vida. Gracias por complementarme y frenarme en momentos de bajada. Como me dijiste una vez “Un pájaro posado en un árbol nunca tiene miedo de que la rama se rompa, porque su confianza no está en la rama sino en sus propias alas”. David, mi cuñado, gracias también por apoyarme y enseñarme a valorarme. Gracias por ser mi hermano. Cayetana, Cana, mi pequeña sobrina, ella no es consciente ahora mismo, pero ha sido y es la personita que me hace desconectar del mundo cada vez que la veo. Llegaste en el mejor momento sin saberlo para recordarme que la vida siempre da cosas maravillosas, como tú. Vicente, mi gran apoyo, soy su fan número uno y me lo demostró desde que me acompañó a matricularme en la Universidad. Gracias por formar parte de mi familia sin serlo y por la dedicación incondicional hacia nosotras. Alex, mi pareja, 12 años que llevamos juntos y has podido ver en primera persona todo mi recorrido. Gracias por la infinita paciencia que tienes, ya que estos dos últimos años

han sido los más complicados con diferencia y he sido una montaña rusa de emociones que has tenido que soportar y manejar. Lo siento. Gracias a tu serenidad y capacidad para escuchar me he sentido arropada, apoyada y valorada por tu parte. Tengo mucha suerte de tenerte a mi lado y quiero dejarlo aquí plasmado. Esta tesis doctoral también es para ti. Mis amigos, que suerte tengo con ellos, porque han estado para lo bueno y lo malo desde que empecé la Universidad. Han celebrado mis logros como si fueran suyos y han venido a mi casa con cantidades industriales de chocolate para animarme en mis momentos de bajón. Realmente digo amigos, pero también son familia. Quiero hacer especial mención a Nieves Cortés, mi extensión, la que me llamaba a las cinco de la mañana para despertarme para estudiar, cuando ella estaba de fiesta, porque sabía que me iba a dormir. Gracias por estar en mi vida. Junto con Jessica Abdulhalim e Irene López, han sido las personas que han estado ahí desde el primer momento. Gracias, amigas, y gracias a los demás que hacen que este grupo sea muy especial, como Carlis, que siempre se ha preocupado por mí. Amigos de la universidad, falla y colegio. Infinitas gracias.

Para finalizar quiero agradecer a mis amigos de las residencias de Anatomía Patológica de las Universidades de Barcelona, Madrid y León por el gran grupo de apoyo y estudio que hemos formado, además de las anécdotas de congresos, cursos y Summer School que nos llevamos siempre con nosotros. Habéis hecho que la residencia sea un camino más fácil.

Infinitas gracias.

“Un pájaro posado en un árbol nunca tiene miedo de que la rama se rompa,
porque su confianza no está en la rama sino en sus propias alas”

Charlie Wardle.

Para mí, mi hermana.

“No hay mal que cien años dure ni pena que el chocolate no cure”

Autor desconocido

Para mí, mi madre.

Resumen

La tesis doctoral se divide en dos bloques: la primera parte se centra en la descripción de los principales procesos patológicos observados en signátidos, mientras que en la segunda se muestra un estudio patológico en cnidarios. Los signátidos son una familia de peces teleósteos que incluyen a los caballitos de mar (*Hippocampus* spp.), peces pipa (*Syngnathus* spp.), dragones de agua (*Phyllopteryx taeniolatus*) y dragones de mar foliados (*Phycodurus eques*). Son especies que están alcanzando una gran popularidad en los acuarios de cría y exhibición durante las últimas décadas. Actualmente, todas las especies de caballitos de mar están incluidas en la lista del Apéndice II de especies en peligro de extinción por la CITES, que restringe la importación y exportación legal de los caballitos de mar, vivos o muertos. Actualmente, y gracias al desarrollo de numerosas investigaciones, los acuarios mantienen poblaciones de manera prolongada en cautividad y se ha logrado la reproducción exitosa de varias especies. A pesar del control ambiental, los signátidos desarrollan patologías que pueden ir ligadas a errores en los parámetros fisicoquímicos de los acuarios, al estrés o a la entrada de agentes etiológicos patógenos. No obstante, existe escasa información bibliográfica sobre las enfermedades que afectan a estas especies. Por ello, en este trabajo se realizó un estudio patológico sobre 4 animales (274 caballitos de mar, 110 peces pipa y 26 dragones de mar) procedentes del Oceanogràfic (Valencia), Aquarium Finisterrae (A Coruña), Atlantis Aquarium (Madrid) y de vida libre. Las patologías descritas en signátidos se agruparon en infecciosas y ambientales. Dentro de la categoría infecciosa, los agentes que se observaron con mayor prevalencia fueron las bacterias no micobacterianas seguidas de las micobacterias. *Mycobacterium fortuitum* y *Mycobacterium* spp. fueron aisladas en 4 y 14 signátidos, respectivamente. Además, 7 animales fueron positivos a los cebadores comunes de *M. chelonae* y *M. marinum*. Los parásitos fueron el segundo grupo con mayor prevalencia, siendo los protozoos ciliados los que se observaron con mayor frecuencia, en concreto, los escuticociliados. En los animales de vida libre

destacó la presencia de trematodos de la familia Lepocreadiidae, Hemiuridae y Buchepalidae y, en animales de cautividad, *Cardiocephaloides longicollis* de la familia Strigeidae. Por otro lado, se identificaron dos tipos de cnidarios: uno de la clase myxozoa, localizado principalmente en el riñón, donde producía hipertrofia y dilatación tubular renal en caballitos y dragones de mar (no observándose en peces pipa); y otro, llamado *Sphaeromyxa* sp., que estaba presente en un *Nerophis lumbriciformis*. Por último, se observó feohifamicosis en todos los grupos de signátidos, excepto en peces pipa. En la categoría ambiental, la patología más frecuente fue la miopatía simétrica bilateral, en todos los grupos de signátidos; y el enfisema subcutáneo en segundo lugar. No se observaron enfermedades neoplásicas ni congénitas.

En el segundo bloque de esta tesis doctoral se realizó un estudio patológico centrado en la Ortiga del Pacífico (*C. fuscescens*) y la Ortiga japonesa (*C. pacifica*). El filo Cnidaria es un grupo diverso de animales invertebrados que están siendo cada vez más populares en los acuarios de cría y exposición al igual que los signátidos. Dentro del filo encontramos cuatro grupos diferentes compuestos por Anthozoa, Scyphozoa, Cubozoa e Hydrozoa. A pesar de la importancia ecológica de los cnidarios, su uso en investigación y su popularidad en zoológicos y acuarios, la presencia de publicaciones sobre las patologías que les afectan es escasa. En este trabajo se observó que, durante un período de 12 meses, un grupo de 14 medusas del género *Chrysaora*: 11 ortigas marinas del Pacífico (*Chrysaora fuscescens*) y 3 ortigas marinas japonesas (*Chrysaora pacifica*), mantenidas en un acuario, desarrollaron lesiones ulcerativas en la exumbrela. En 6 casos (42,9%) la ulceración fue profunda y transmural, perforando la mesoglea y la subumbrela. En 6 casos (42,9%) se observaron protozoos ciliados histológica y morfológicamente compatibles con escuticociliados en la mesoglea y la cavidad gastrovascular. En 2 casos (14,3%) se encontraron dinoflagelados comensales (zooxantelas) en la mesoglea y en el citoplasma de los escuticociliados. Durante este período, los parámetros de calidad del agua, incluidos los niveles de temperatura,

pH, potencial de oxidación-reducción, salinidad, oxígeno disuelto, amoníaco y nitritos fueron monitorizados diariamente. Las principales anomalías en la calidad del agua fueron niveles elevados de nitritos y pH por encima de los rangos de referencia recomendados para *C. fuscescens*, y temperatura elevada por encima de los rangos de referencia recomendados para el tanque de *C. pacifica*. Después de la corrección de los parámetros de calidad del agua, se observó una mejora aparente de las lesiones. En este caso, los factores ambientales se consideraron los factores predisponentes más probables para el desarrollo de lesiones ulcerativas, y los protozoos ciliados se consideraron patógenos secundarios.

Abstract

Doctoral thesis is divided into two blocks: the first part focuses on the description of the main pathological processes observed in syngnathids, while the second part shows a pathological study in cnidarians. Syngnathids are a family of teleost fishes that include seahorses (*Hippocampus* spp.), pipefishes (*Syngnathus* spp.), water dragons (*Phyllopteryx taeniolatus*), and leafy seadragons (*Phycodurus eques*). They are species that are becoming very popular in breeding and display aquariums in the last decades. Currently, all species of seahorses are included in the Appendix II list of endangered species by CITES, which restricts the legal import and export of seahorses, dead or alive. Nowadays, and thanks to the development of numerous investigations, aquariums maintain populations in captivity for a long time and the successful reproduction of several species has been achieved. However, and despite environmental control, syngnathids develop pathologies that can be linked to errors in the physicochemical parameters of aquariums, to stress or to the entry of pathogenic etiological agents. Even so, there is still so little bibliographic information on the diseases that arise in these species. For this reason, in this work a pathological study was carried out on 410 animals (274 seahorses, 110 pipe fish and 26 sea dragons) from the Oceanogràfic (Valencia), Aquarium Finisterrae (A Coruña), Atlantis Aquarium (Madrid) and of free life. The pathologies found in syngnathids were grouped into infectious and environmental. Within the infectious category, the agents that were observed with the highest prevalence were non-mycobacterial bacteria followed by mycobacteria. *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium* spp. that were isolated at 4 and 14 syngnathids, respectively. In addition, 7 animals were positive to the common primers of *M. chelonae* and *M. marinum*. Parasites were the second most prevalent group, with ciliated protozoa being the most frequently observed, specifically scuticociliates. In free-living animals, the presence of trematodes of the Lepocreadiidae, Hemiuridae and Bucephalidae families stands out, and in captive animals, *Cardiocephaloides longicollis* of the Strigeidae family. On the other hand,

two types of cnidarians were identified: one of the myxozoa class, located mainly in the kidney, where it produced renal tubular atrophy and dilation in seahorses and seadragons (not observed in pipefish); and another, called *Sphaeromyxa* sp., which was present in a *Nerophis lumbriciformis*. Finally, pheohyphomycosis was demonstrated in all syngnathid groups, except pipefish. In the environmental category, the most frequent pathology was bilateral symmetric myopathy, in all syngnathid groups; and subcutaneous emphysema in second place. No neoplastic or congenital diseases were observed.

In the second block of this doctoral thesis, we carried out a pathological study focused on the Pacific Nettle (*C. fuscescens*) and the Japanese Nettle (*C. pacifica*) was carried out. The phylum Cnidaria is a diverse group of invertebrate animals. They are species that are also becoming increasingly popular in breeding and exhibition aquariums, just like syngnathids. Within the phylum we find four different groups composed by Anthozoa, Scyphozoa, Cubozoa and Hydrozoa. Despite the ecological importance of cnidarians, their use in research and their promotion in zoos and aquariums, the presence of publications on the pathologies that photograph them is, as in meanings, scarce. In this work it was shown that, during a period of 12 months, a group of 14 jellyfish of the genus *Chrysaora*: 11 Pacific sea nettles (*Chrysaora fuscescens*) and 3 Japanese sea nettles (*Chrysaora pacifica*), kept in an aquarium, developed ulcerative lesions on the exumbrella. In 6 cases (42.9%) the ulceration was deep and transmural, perforating the mesoglea and the subumbrella. In other 6 cases (42.9%), ciliated protozoa histologically and morphologically compatible with scuticociliates were observed in the mesoglea and gastrovascular cavity. In 2 cases (14.3%) commensal dinoflagellates (zooxanthellae) were found in the mesoglea and in the cytoplasm of the scuticociliates. During this period, water quality parameters including temperature, pH, oxidation-reduction potential, salinity, dissolved oxygen, ammonia, and nitrite levels were monitored daily. The main water quality anomalies founded were elevated nitrite and pH levels above the recommended reference ranges for *C.*

fuscescens and elevated temperature above the recommended reference ranges for the *C. pacifica* tank. After correction of the water quality parameters, an apparent improvement of the lesions was observed. In this case, environmental factors were considered the most likely predisposing factors for the development of ulcerative lesions, and ciliated protozoa were considered secondary pathogens.

Índice

Lista de abreviaturas.....	27
Índice de figuras.....	31
Índice de tablas.....	39
1. Introducción.....	43
1.1 Animales acuáticos y medio ambiente.....	43
1.2 Signátidos.....	44
1.2.1 Anatomía e histología de los signátidos.....	45
1.2.2 Reproducción.....	56
1.2.3 Patologías de los signátidos.....	58
1.3 Cnidarios.....	60
1.3.1 Clases y subfilos de los cnidarios.....	61
1.3.1.1 Anthozoa.....	61
1.3.1.2 Scyphozoa.....	62
1.3.1.3 Cubozoa.....	63
1.3.1.4 Hidrozoa.....	64
1.3.2 Anatomía e histología de los cnidarios.....	65
1.3.3 Patología de los cnidarios.....	66
2. Objetivos.....	73
3. Material y métodos.....	77
3.1 Apartado 1: Patología en signátidos.....	77
3.1.1 Obtención de muestras en signátidos.....	77
3.1.2 Condiciones ambientales.....	78
3.1.3 Procedimiento de alimentación.....	78
3.1.4 Análisis macroscópico.....	79

3.1.5	Descalcificación.....	80
3.1.6	Análisis microscópico	81
3.1.7	Análisis parasitológico	81
3.1.8	Análisis parasitológico en caracoles.....	82
3.1.9	Microscopía electrónica.....	83
3.1.10	Análisis molecular.....	83
3.1.10.1	Extracción del ADN genómico	83
3.1.10.2	Amplificación del ADN mediante PCR convencional	85
3.1.10.3	Amplificación del ADN mediante PCR en tiempo real ...	86
3.1.10.4	Amplificación del ADN mediante RT- qPCR	87
3.1.11	Análisis toxicológico	89
3.2	Apartado 2: Estudio patológico en Ortiga del Pacífico (<i>C.fuscescens</i>) y Ortiga japonesa (<i>C. pacífica</i>)	90
3.2.1	Obtención de muestras	90
3.2.2	Hallazgos clínicos y eutanasia.....	90
3.2.3	Análisis macroscópico	91
3.2.4	Análisis microscópico	91
3.2.5	Condiciones ambientales	91
3.2.6	Procedimiento de alimentación.....	92
4.	Resultados	97
	Apartado 1: patología en signátidos.....	97
4.1	Patologías infecciosas.....	97
4.1.1	Agentes bacterianos	97
4.1.1.1	Bacterias no micobacterianas.....	97
4.1.1.2	Micobacterias.....	101
4.1.2	Agentes parasitarios	108

4.1.2.1	Protozoos.....	108
4.1.2.1.1	Protozoos ciliados.....	109
I.	Escuticociliados	109
II.	Trichodinidae	111
4.1.2.1.2	Protozoos flagelados	113
4.1.2.2	Metazoos	115
4.1.2.2.1	Trematodos.....	115
I.	Lepocreadiidae	115
II.	Hemiuridae	117
III.	Strigeidae.....	119
IV.	Bucephalidae	121
4.1.2.2.2	Cestodos.....	122
I.	Trypanorhyncha.....	122
4.1.2.2.3	Nematodos	124
I.	Hysterothylacium	124
4.1.3	Cnidarios.....	124
I.	Myxozoa	124
II.	<i>Sphaeromyxa</i> sp.....	126
4.1.4	Agentes fúngicos	127
I.	Feohifamicosis.....	127
4.2	Enfermedades ambientales	130
4.2.1	Miopatía simétrica bilateral	130
4.2.2	Enfisema subcutáneo (“Gas Bubble Disease”)	133
4.3	Otros hallazgos.....	135
4.4	Datos ambientales.....	136

Apartado 2: Estudio patológico en Ortiga del Pacífico

(<i>C. fuscescens</i>) y Ortiga japonesa (<i>C. pacifica</i>).....	136
4.5 Hallazgos macroscópicos.....	140
4.6 Hallazgos microscópicos.....	141
4.7 Datos ambientales y manejo clínico.....	142
5. Discusión.....	149
Apartado 1: Patología en signátidos.....	149
5.1 Patologías de origen infeccioso.....	149
5.1.1 Agentes bacterianos.....	149
5.1.1.1 Bacterias no micobacterianas.....	149
5.1.1.2 Micobacterias.....	154
5.1.2 Agentes parasitarios.....	159
5.1.2.1 Protozoos.....	159
5.1.2.1.1 Protozoos ciliados.....	160
I. Escuticociliados.....	160
II. Trichodinidae.....	162
5.1.2.1.2 Protozoos flagelados.....	163
5.1.2.2 Metazoos.....	165
5.1.2.2.1 Trematodos.....	166
I. Lepocreadiidae.....	168
II. Hemiuridae.....	169
III. Strigeidae.....	170
IV. Bucephalidae.....	172
5.1.2.2.2 Cestodos.....	173
I. Trypanorhyncha.....	173
5.1.2.2.3 Nematodos.....	175
I. Hysterothylacium.....	175

5.1.3	Cnidarios.....	176
5.1.3.1	Myxozoa	176
5.1.3.2	<i>Sphaeromyxa</i>	178
5.1.4	Agentes fúngicos	179
5.1.4.1	Feohifamicosis.....	179
5.2	Enfermedades ambientales.....	180
5.2.1	Miopatía simétrica bilateral	180
5.2.2	Enfisema subcutáneo (“Gas Bubble disease”).....	184
5.3	Otros hallazgos.....	187
Apartado 2: Estudio patológico en Ortiga del Pacífico		
	(<i>C. fuscescens</i>) y Ortiga japonesa (<i>C. pacifica</i>).....	188
6.	Conclusiones.....	195
7.	Bibliografía	199

Lista de abreviaturas

°	Grado alcohólico volumétrico
°C	Grado Celsius
% (v/v)	Porcentaje Volumen a Volumen
µg	Microgramos
µm	Micrómetro
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Al	Aluminio
As	Arsénico
AVMA	American Veterinary Medical Association
<i>B.</i>	<i>Bittium</i>
<i>C.</i>	<i>Chrysaora</i>
Ca	Calcio
Cd	Cadmio
Ce	Cerio
CITES	Convención para el Comercio Internacional de Especies en Peligro de Extinción
Co	Cobalto
CO ₂	Dióxido de carbono
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DMP	2,2-dimetoxipropano
Fe	Hierro
Ge	Germanio
<i>H.</i>	<i>Hippocampus</i>
h	Horas
H-E	Hematoxilina - eosina

HNO ₃	Ácido nítrico
I	Yodo
ICP-MS	Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente
Ir	Iridio
IS	Insertion sequence
ITS	Internal transcribed spacer
IUCN	The International Union for Conservation of Nature
K	Potasio
L	Litro
L/h	Litro/hora
Li	Litio
<i>M.</i>	<i>Mycobacterium</i>
Mg	Magnesio
mg	Miligramo
mg/L	Miligramo/litro
ml	Mililitro
mm	Milímetro
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
MΩ	Miliohmios
<i>N.</i>	<i>Nerophis</i>
N	Nitrógeno
Na	Sodio
NaCl	Cloruro de sodio
Ni	Níquel
NTM	Nontuberculous mycobacteria

ORP	Potencial de oxidación y reducción. Del inglés: Oxidation reduction potencial
<i>P.</i>	<i>Phyllopteryx</i>
P	Fósforo
PAS	Ácido periódico de Schiff. Del inglés: Periodic Acid-Schiff
Pb	Plomo
PBS	Tampón fosfato salino. Del inglés: Phosphate Buffered Saline
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa. Del inglés: Polymerase chain reaction
pH	Potencial de hidrógeno
qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa o en tiempo real
Rh	Rodio
RT-qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa o en tiempo real con transcriptasa inversa
<i>S.</i>	<i>Syngnathus</i>
Sc	Escandio
Se	Selenio
Sr	Estroncio
SYBR	Agente intercalante utilizado en la tinción de ADN
spp.	Especies
TCBS	Agar tiosulfato citrato bilis sacarosa
Ti	Titanio
TM	Melting temperature
UV	Ultravioleta
<i>V.</i>	<i>Vibrio</i>
Z-N	Ziehl-Neelsen
Zn	Zinc

Índice de figuras

Figura 1. Anatomía del caballito de mar.	45
Figura 2. Radiografía de <i>Hippocampus abdominalis</i> y <i>Syngnathus acus</i> . Exoesqueleto de caballito de mar (<i>Hippocampus abdominalis</i>) (izquierda) y de pez pipa (<i>Syngnathus acus</i>) derecha. Ambos se caracterizan por poseer un exoesqueleto formado por anillos óseos.	46
Figura 3. Localización de las aletas. (a) <i>Hippocampus abdominalis</i> . Aleta pectoral (flecha roja), aleta dorsal (flecha negra) y aleta anal (flecha azul). (b) <i>Syngnathus acus</i> . Aleta pectoral (flecha roja), aleta dorsal (flecha negra) y aleta caudal (flecha azul). (c) <i>Phyllopteryx taeniolatus</i> . Aleta pectoral (flecha roja), aleta dorsal (flecha negra), aleta anal (flecha azul) y apéndices (asterisco blanco).	47
Figura 4. Sexado en signátidos. Dos ejemplares de <i>Hippocampus reidi</i> . Macho (izquierda) con bolsa de cría (asterisco). Hembra (derecha) con ovopositor (flecha).	54
Figura 5. Área que abarca la cámara de cría en los diferentes grupos de signátidos (líneas azules) (a) <i>Hippocampus reidi</i> . Bolsa de cría ubicada justo por debajo de la cavidad celómica ocupando la parte más craneal de la cola. (b-c) <i>Syngnathus acus</i> y <i>Phyllopteryx taeniolatus</i> . Cámara de cría ubicada a lo largo de la cola	58
Figura 6. Esquema del ciclo de vida del subfilo Scyphozoa (Schariti <i>et al.</i> , 2008).	63
Figura 7. Colonias de una <i>Physalis physalia</i> (Corpa <i>et al.</i> , 2019).	65
Figura 8. Mecanismo del nematocisto (Corpa <i>et al.</i> , 2019).	66
Figura 9. Necropsia de signátidos. (a) <i>Syngnathus acus</i> . Cortes transversales en animales pequeños (< 3-4 cm). (b) <i>Hippocampus abdominalis</i> . Necropsia y extracción de órganos en animales de gran tamaño (> 4 cm) mediante un corte en la cavidad celómica.	80
Figura 10. Úlcera en <i>Syngnathus acus</i> . Úlcera de 1 x 0,5 cm en el área distal de la cola con exposición del hueso (flecha).	99

<p>Figura 11. Bacterias no micobacterianas en signátidos. (a) <i>Hippocampus reidi</i>, branquias. Necrosis del epitelio de las lamelas y colonias bacterianas (asterisco amarillo). H-E. 20x. (b) <i>Hippocampus guttulatus</i>, hígado. Pérdida de la estructura del parénquima hepático por la presencia de un foco de necrosis (flecha roja). H-E. 40x. (c) <i>Syngnathus acus</i>, intestino posterior. Pérdida de epitelio junto con inflamación polimorfonuclear y necrosis (flecha roja). Presencia de colonias bacterianas. H-E. 20x. (d) <i>Phyllopteryx taeniolatus</i>, hígado. Presencia de bacilos gram positivos (asterisco amarillo). Gram. 40x.</p>	100
<p>Figura 12. Epiteliocistis. <i>Hippocampus reidi</i>, branquias. Foco de bacterias basófilas cocoides, de 0,5 µm de tamaño. H-E. 20x.</p>	101
<p>Figura 13. Lesiones macroscópicas de signátidos con micobacteriosis. (a) <i>Hippocampus reidi</i> con una úlcera roja de 4 mm de diámetro en la cola (flecha roja). (b) Caballito de mar <i>Hippocampus guttulatus</i> con exoftalmía leve y apariencia opaca del ojo derecho. Recuadro: La sección transversal del ojo blanco mostró un nódulo blanco retro bulbar de 3 mm que desplaza el ojo (flecha roja). (c) <i>Hippocampus guttulatus</i> con piel blanca y elevada por la presencia de un nódulo de 1 cm en la cavidad celómica. Recuadro: La sección transversal reveló un nódulo de 1 cm con contorno elevado y consistencia firme que se originaba en la pared de la cavidad celómica (asterisco). (d) Dragón común (<i>Phyllopteryx taeniolatus</i>) con nódulos blancos multifocales a coalescentes de 1 mm en el hígado (asterisco).</p>	103
<p>Figura 14. Lesiones microscópicas de signátidos con micobacteriosis. (a) Mesenterio. <i>Phyllopteryx taeniolatus</i> con inflamación granulomatosa nodular a difusa y restos necróticos. H-E. 40x. (b) Branquias. <i>Syngnathus acus</i> con capilar lamelar distendido y ocluido por émbolos bacterianos (flecha). H-E. 60x. Recuadro: Embolo bacteriano con bacterias acidorresistentes. Z-N. 60x (c) Hígado con numerosos macrófagos cargados de bacterias acidorresistentes (asterisco). Z-N. 60x. (d) Mesenterio. <i>Syngnathus acus</i> con un trombo formado por macrófagos adheridos a la pared de un vaso de tejido mesentérico (flecha). (f) Corazón. <i>Syngnathus acus</i> con émbolos bacterianos en la luz del ventrículo cardíaco (asterisco). H-E. 10x.</p>	105

<p>Recuadro: Embolo bacteriano con bacterias acidorresistentes. Z-N. 60x</p> <p>(f) Piel. <i>Hippocampus reidi</i> con reemplazo de fibras de colágeno por macrófagos y necrosis (flecha). H-E. 20x. (g) Cerebro. <i>Hippocampus guttulatus</i> con hemisferios cerebrales asimétricos con presencia de inflamación compuesta por macrófagos y restos necróticos que reemplazaban al neuropilo (asterisco). H-E. 2x. (h) Ojo. <i>Hippocampus guttulatus</i> con ojos asimétricos por presencia de inflamación granulomatosa periocular que infiltraba produciendo la rotura del ojo derecho (flecha). H&E. 2x.</p>	
<p>Figura 15. Escuticociliado con forma de lágrima. Presencia de un macronúcleo y vacuolas contráctiles en su interior, todo ello tapizado por una multitud de cilios. PAS. 60x.</p>	110
<p>Figura 16. Lesiones microscópicas de signátidos con escuticociliados.</p> <p>(a) Piel de <i>Syngnathus acus</i>. Presencia de escuticociliados en la piel sin presencia de inflamación. H-E. 60x. (b) Músculo esquelético de <i>Hippocampus guttulatus</i>. Presencia de escuticociliados reemplazando y destruyendo fibras de músculo junto con macrófagos. H-E. 40x.</p>	111
<p>Figura 17. Raspado de piel de <i>Hippocampus reidi</i>. Identificación de Trichodinidae con aro de cilios internos (flecha blanca), externos (flecha roja) y macronúcleos (asterisco).</p>	112
<p>Figura 18. Lesiones macro y microscópicas de signátidos con Trichodinidae. <i>Hippocampus reidi</i> (a) Piel de la cola y cavidad celómica de color rojo difuso. (b) Extravasación de eritrocitos, de moderada a grave, por la presencia de Trichodinidae. H-E. 40x.</p>	112
<p>Figura 19. Microscopía electrónica de barrido de Trichodinidae. Estructura con forma de copa invertida y con un hueco en el interior de 10 x 20 µm</p>	113
<p>Figura 20. Raspado de piel de <i>Hippocampus abdominalis</i>. Protozoo flagelado con macronúcleo central (asterisco) y flagelo (flecha blanca).</p>	114
<p>Figura 21. Lepocreadiidae gen. sp. Detalle de la parte anterior. Tegumento espinoso (asterisco), ventosa oral (flecha blanca) con faringe (flecha roja) ubicada en la parte posterior de la ventosa oral</p>	116

Figura 22. Hallazgos macro y microscópicos de Lepocreadiidae gen. sp. (a) Corte transversal macroscópico de <i>Syngnathus abaster</i> a nivel de la cavidad celómica craneal donde se observa hígado (asterisco blanco) e intestino anterior (asterisco rojo). En el hígado se observan tres quistes de 0,2-0,5 mm (flechas negras) (b) Hígado del mismo individuo con dos metacercarias (flechas negras) sin apenas inflamación asociada. H-E. 2x.	117
Figura 23. Características morfológicas de Hemiuridae gen. sp. en <i>Nerophis lumbriciformis</i> . (a) Parásito sin teñir donde se observa el ovario (flecha), y el ecsoma (asterisco). (b) Parasito teñido con la tinción carmín donde se observa la ventosa oral (flecha negra), faringe (flecha naranja), la ventosa ventral (flecha verde), los ciegos (asterisco negro) y el ecsoma (asterisco verde).	118
Figura 24. Hallazgos macro y microscópicos de Hemiuridae gen. sp. <i>Syngnathus typhle</i> (a) Corte transversal con hígado, intestino y músculo. Presencia de quistes parasitarios (flechas). (b) Corte transversal con dos metacercarias en el hígado (flechas). H-E. 2x.	119
Figura 25. Hallazgos macro y microscópicos de <i>Cardiocephaloides longicollis</i> . (a) Corte transversal macroscópico de <i>Syngnathus abaster</i> a nivel de branquias y cerebro con un quiste con pared gruesa de 0,5 mm (flecha) (b) Cerebro del mismo individuo con dos metacercarias en el interior del quiste (flecha) produciendo dilatación del ventrículo y espongirosis. H-E. 2x.	121
Figura 26. Hallazgos microscópicos de Trypanorhyncha. (a) <i>Phyllopterix taeniolatus</i> Intestino anterior. Cuatro quistes parasitarios con cortes transversales del parásito (flecha azul) y un quiste calcificado (flecha negra). H-E. 20x. (b) Detalle del plerocercarioide donde se observa los tentáculos espinados en la bola tentacular (flechas negras) y el blastocisto (asterisco rojo). H.E. 40x.	123
Figura 27. Hallazgos microscópicos de <i>Hysterothylacium</i> . <i>Syngnathus typhle</i> , cavidad celómica. Se observa musculatura (“polymyarian-coelomyarian”), el pseudoceloma e intestino con luz tricúspide.	124
Figura 28. Hallazgos microscópicos de mixozoos. <i>Phyllopterix</i>	126

<i>taeniolatus</i> . (a) Riñón. Espora esférica rodeada por una pared retráctil y un gran núcleo. PAS. 60x (b) Riñón. Dilatación, hipertrofia e hiperplasia de túbulos renales. H-E. 20x.	
Figura 29. Hallazgos macro y microscópicos de <i>Sphaeromyxa</i> sp. <i>Nerophis lumbriciformis</i> (a) Vesícula biliar con estructura en forma de "C" (flecha negra) produciendo dilatación de la vesícula. (b) Plasmodio esporogónico (asterisco rojo), capa gruesa (asterisco negro) y esporogonia (flecha negra). H-E 40X.	127
Figura 30. Hallazgos macroscópicos de feohifamicosis. (a) <i>Hippocampus abdominalis</i> con una úlcera de 1 cm de diámetro en cavidad celómica. (b) <i>Phyllopterix taeniolatus</i> con una úlcera de 2 cm en la zona más craneal de la cola.	128
Figura 31. Hallazgos microscópicos de feohifamicosis. (a) <i>Hippocampus abdominalis</i> , branquias. Estructuras fúngicas pigmentadas en áreas de necrosis. H-E. 20x. (b) <i>Phyllopterix taeniolatus</i> , mesenterio. Hifas septadas, con ramificaciones irregulares, no dicotómicas y paredes delgadas en el interior de los vasos y en áreas de restos celulares del tejido mesentérico. Grocott. 40x.	129
Figura 32. Hallazgos histológicos de la miopatía simétrica bilateral. (a) <i>Hippocampus abdominalis</i> . Imagen a pocos aumentos donde se aprecia la musculatura afectada (asterisco negro) comparada con la musculatura no afectada. (b) <i>Hippocampus reidi</i> . Hipereosinofilia de las fibras, pérdida de estriación, esféricas, y sin células inflamatorias. (c) <i>Hippocampus abdominalis</i> . Fragmentación de fibras musculares, restos necróticos y presencia de macrófagos. (d) <i>Syngnathus typhle</i> . Pérdida de la estructura normal del músculo reemplazado por tejido conjuntivo fibroso, con ausencia o poca cantidad de inflamación.	131
Figura 33. Hallazgos macro y microscópicos del enfisema subcutáneo. <i>Hippocampus hippocampus</i> . (a) Múltiples nodulaciones de 1-5 mm con distribución multifocal a coalescente a lo largo de toda la cola. (b) Numerosas cavidades localizadas en la cola expandiendo la dermis y elevando la epidermis. H-E. 2x.	134
Figura 34. Anatomía de las medusas. (a) <i>Aurelia labiata</i> (vista lateral), se puede apreciar la exumbrela, los tentáculos marginales y los brazos	137

orales. (b) *Aurelia labiata* (vista ventral), nótese la subumbrela con las gónadas y la apertura digestiva en posición central.

Figura 35. Histología normal de las medusas. (a-b) *Chrysaora melanaster*. Umbrela. Se observan las diferentes capas epiteliales; exumbrela (E) y subumbrela (S), separadas por la mesoglea (M). La exumbrela contiene los cnidocitos (c) y células pigmentarias (pc). Los cnidocitos se distribuyen formando rosetas separadas por numerosas células mucosas (mc). La mesoglea contiene escasas células inflamatorias denominadas amebocitos. H-E. 20x. (c) *Chrysaora melanaster*. Umbrela), se aprecia una gran cantidad de pigmento marrón localizado en la mesoglea; H-E. 20x.

138

Figura 36. Histología normal de las medusas (a) *Chrysaora fuscescens*. Brazos orales. Se observa la capa ectodérmica que contiene numerosas cnidocitos (c) y una cantidad baja de mesoglea (M). H-E. 20x. (b) *Cassiopea xamachana*. Brazos orales. Se muestra el ectodermo (E) con numerosos cnidocitos (c) y nematocistos (nc) maduros conteniendo el filamento urticante. Se puede apreciar un número variable de células pigmentarias (p) y células glandulares (gc). H-E. 40x. (c) *Cassiopea xamachana*. Ovario. Se observa la cavidad gástrica (cg) separada por la gastrodermis (G), el ovario está formado por numerosos oocitos maduros (oc) que presentan un núcleo (n) con nucleolo (ns) y oogonias (og). El seno genital (gs) está delimitado por epitelio genital (ge). H-E. 20x.

139

Figura 37. Hallazgos macroscópicos de las medusas. (a) *C. fuscescens*. Exumbrela. Lesiones ulcerativas moderadas en la exumbrela (flecha). (b) *C. fuscescens*. Exumbrela. Úlcera exumbrelar moderada con oscurecimiento del tejido periulcerativo. (c) *C. pacifica*. Exumbrela. Úlcera grave, transmural, focalmente extensiva de 5 cm de diámetro. (d) *C. fuscescens*. Exumbrela. Úlcera grave y transmural provocando herniación de tentáculos y gónadas a través de la exumbrela.

140

Figura 38. Hallazgos histológicos de las medusas. (a). *C. fuscescens*. Exumbrela y mesoglea. Ulceración de exumbrela (flecha) con desorganización moderada de las fibras mesogleales (punta de flecha)

142

debido a la expansión de la mesoglea por edema. H-E. 10x. (b) *C. fuscescens*. Epitelio exumbrelar. El epitelio exumbrelar estaba moderadamente engrosado debido al aumento del número de células, hiperplasia epitelial (punta de flecha). H-E. 20x. (c) *C. pacifica*. Cavity gastrovascular y mesoglea. Protozoos ciliados (flecha) y numerosas zooxantelas (punta de flecha) presentes en la mesoglea. H-E. 20x. (d) *C. pacifica*. Mesoglea y cavity gastrovascular. Numerosos amebocitos (flecha) infiltrando la mesoglea asociada a protozoos (asterisco) y zooxantelas (punta de flecha). H-E. 20x.

Figura 39. El gráfico muestra los cambios de temperatura y pH en el tanque de agua de *C. fuscescens* durante el período de estudio. Temp, temperatura; Tmax, temperatura máxima; T min, temperatura mínima; pH máx, máximo pH; pH min, pH mínimo. 143

Figura 40. El gráfico muestra los cambios de nitritos y amoníaco en el tanque de *C. fuscescens* durante el período de estudio. Se registraron altos valores de nitritos durante la mayor parte del estudio, mientras que el amoníaco se elevó solo ocasionalmente. NO₂, Nitrito; NH₃, amoníaco; max, máximo 144

Figura 41. El gráfico muestra los cambios de temperatura y pH en el agua del tanque de *C. pacifica* durante el período de estudio. Temp, temperatura; T max, temperatura máxima; T min, temperatura mínima; pH máx, pH máximo; pH min, pH mínimo. 145

Figura 42. El gráfico muestra los cambios en nitritos y amoníaco en el tanque de agua de *C. pacifica* durante el período de estudio. Se registraron valores puntualmente altos de nitritos y amoníaco durante los meses de julio-septiembre y junio-agosto, respectivamente. NO₂, Nitrito; NH₃, amoníaco; max, máximo. 146

Índice de tablas

Tabla 1. Cebadores diseñados para las diferentes secuencias utilizadas en este estudio.	88
Tabla 2. Micobacterias identificadas en caballitos de mar	107
Tabla 3. Micobacterias identificadas en peces pipa.	108
Tabla 4. Micobacterias identificadas en dragones de mar..	108
Tabla 5. Valores detectados tras el análisis toxicológico de muestras de hígado en 5 signátidos. Valores en ppm.	133
