



Universidad Veracruzana

Faculta de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Región Poza Rica-Tuxpan

MAESTRÍA EN MANEJO DE ECOSISTEMAS MARINOS Y COSTEROS

**Descripción histológica del síndrome de lunares oscuros
en la especie *Orbicella annularis* en el arrecife Tuxpan**

Tesis para obtener el grado de Maestra en
MANEJO DE ECOSISTEMAS MARINOS Y COSTEROS

Presenta:

MILAGROS OLIMPIA DEL ANGEL LEMUS

Director:

Adán Guillermo Jordán Garza

Co-Director:

Daniel Sokani Sánchez Montes

Asesor:

Jorge Luis Chagoya Fuentes

Junio del 2022

“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”

Universidad Veracruzana

Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Región Poza Rica-Tuxpan

Maestría en Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros

*Descripción histológica del síndrome de lunares oscuros en la especie *Orbicella annularis* en el arrecife Tuxpan*

Tesis para obtener el grado de Maestra en
Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros

Presenta:
Milagros Olimpia Del Angel Lemus

Director:
Adán Guillermo Jordán Garza

Co-director:
Daniel Sokani Sánchez Montes

Asesor:
Jorge Luis Chagoya Fuentes

DR. AGUSTÍN DE JESÚS BASÁÑEZ MUÑOZ

Coordinador de la Maestría en Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros

Facultad De Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Universidad Veracruzana

PRESENTE

Por este medio, hacemos mención que hemos revisado y aprobado el trabajo final de tesis titulado: **“Descripción histológica del síndrome de lunares oscuros en la especie *Orbicella annularis* en el arrecife Tuxpan”**, de la MVZ. Milagros Olimpia del Angel Lemus, estudiante de la Maestría en Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros, y mediante este escrito consentimos la culminación de este trabajo de investigación.

Sin más por el momento, nos despedimos de usted agradeciendo la atención prestada.

ATENTAMENTE

Tuxpan de Rodríguez. Cano, Veracruz, México, 02 de agosto de 2022


Dr. Adán Guillermo Jordán Garza
Director


Dr. Daniel Sokani Sanchez Montes
Co-Director


Dr. Jorge Luis Chagoya Fuentes
Asesor



PO Box 2751
Grand Junction, CO 81502
info@LightHawk.org

Noviembre 8, 2022

Mtro. Agustín de Jesús Basáñez Muñoz
Coordinador
Maestría en Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros
Universidad Veracruzana

Estimado Agustín,

Por medio de la presente deseo presentar mi aprobación a la tesis de Maestría: "Descripción histológica del Síndrome de Lunares Oscuros en la especie *Orbicella annularis* en el arrecife Tuxpan" presentada por la estudiante Milagros Olimpia del Ángel Lemus.

Saludos,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "DLG.1". The signature is stylized with large, sweeping loops.

Diego L. Gil-Agudelo
Director of Conservation

A 08 de noviembre de 2022, Tuxpan de Rdz. Cano, Veracruz

Mtro. Agustín de Jesús Basáñez Muñoz

Coordinador

Maestría en Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros

Universidad Veracruzana

PRESENTE

Por medio de la presente deseo presentar mi aprobación a la tesis de Maestría:

“Descripción histológica del Síndrome de Lunares Oscuros en la especie

***Orbicella annularis* en el arrecife Tuxpan”** presentada por la estudiante Milagros

Olimpia del Ángel Lemus.

Saludos



Dr. Eduardo A. Zarza Meza

Docente de Tiempo Completo Titular C

Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Universidad Veracruzana

Agradecimientos

A CONACYT por financiar este trabajo, el cual pude concluir satisfactoriamente. Con el apoyo de la beca, me fue posible, como a más investigadores, a continuar con nuestra preparación profesional.

A la Universidad Veracruzana, por contar con posgrados de calidad, como lo es el programa de Manejo de Ecosistemas Marinos y Costeros del cual forme parte de la generación 2020-2022, además de darle un gran agradecimiento al coordinador de este programa el Dr. Agustín Basáñez Muñoz, quien siempre estuvo asesorándonos y orientándonos en cada duda.

A el Centro de Medicina Tropical por brindar el equipo para poder entregar mejores resultados en este trabajo y a las personas que estuvieron conmigo en mi estadía que me proporcionaron su apoyo, asesoría y tiempo para poder mejorar.

A mis directores y asesores, el Dr. Chagoya, el Dr. Sokani y el Dr. Jordán que estuvieron revisando cada detalle de este trabajo, siempre alentándome y creyendo en mi potencial. Por eso y más estoy muy agradecida.

A mi comité revisor, el Dr. Zarza, el Dr. Gil-Agudelo y la Dra. Rodríguez, con sus comentarios y aportaciones para mejorar el trabajo, empáticos ante las circunstancias presentadas en las que este se desarrolló, siempre abiertos a la conversación para la mejoría de este, acompañándome hasta donde pudieron.

Agradezco infinitamente a mi familia que a pesar de todo me han apoyado, en los momentos malos como en los buenos durante este proceso. Que a pesar de que todo estuvo en contra debido a la contingencia, creyeron que si podía terminar. Muchas gracias.

A mi abuelita y mi tía Chary, por el tiempo que compartimos en pandemia. Abuelita te agradezco que después de estudiar mucho, jugaras conmigo a las cartas hasta el último momento que pudiste. Que también jamás te olvidaste de mi hasta en tus últimos días, y atesoro los calcetines de gatitos que me regalaste días antes de partir de este mundo. Tia Chary, gracias por estudiar conmigo todos los días para el examen de admisión, así como escucharme exponer, aunque no me entendieras, siempre me escuchabas y revisabas mis trabajos.

A mis compañeros de maestría agradezco los momentos que compartimos, divertidos como de vulnerabilidad, solo entre nosotros comprendíamos que este proceso en las

circunstancias que vivíamos fue difícil, pero estuvimos siempre para escucharnos los unos a los otros y a pesar de no poder convivir en persona en gran parte de la maestría siempre quisimos vernos salir adelante.

Un inmenso agradecimiento a mis amigos de universidad y de vida, Martín, Ezequiel, Omar, Itzel, Chinos (Gabriel), Sebas, Aaron, Richi, Criss, Itzel, Nicole y Tziri. Gracias por siempre estar cuando necesito ser escuchada, sin importar cuanto tiempo pase, sé que estarán para mí y yo para ustedes.

Betzy gracias por darme de comer y prestar atención a mi salud cuando me descuidaba por estar dentro de mis estudios, por ser un hombro en el cual apoyarme en todo momento, por ser mi familia por elección y ser siempre incondicional.

Gracias Gil por siempre creer en mí, por ser esa voz alentadora, darme ánimos cuando lo necesité, creyendo en mis proyectos, festejando mis logros a mi lado, así como siendo un lugar seguro en mis momentos tristes, a pesar de todos eso siempre me motivas a seguir adelante.

Estoy inmensamente agradecida con Gil y Betzabel. Sin ustedes créanme que yo no estaría aquí.

A la casa amarilla de Vista Hermosa les agradezco no solo brindarme un espacio donde vivir, si no, también conocerlos en esta última etapa, me ayudó mucho a disfrutar lo que quedaba de este camino hasta el final.

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico con mucho cariño a:

- Mi abuelita, quien me hubiera gustado que, así como me viste entrar, me hubieras visto salir con la frente en alto. Se que estarías orgullosa de mi como de todos tus nietos.
- Mi familia, aunque seamos muy diferentes entre todos siempre estamos para darnos el respaldo.
- Mis amigos, que jugaron un papel muy importante en este proceso para no rendirme nunca, sus palabras, su apoyo y sus risas jamás permitieron que me rindiera aun cuando creía que ya no podía más.

Índice

I. Introducción	1
II. Antecedentes.....	3
2.1.- <i>Orbicella annularis</i>	3
2.1 Anatomía e histología del pólipo.....	3
2.2 Enfermedades en corales	8
2.3 La histología como comienzo a un diagnóstico	12
2.4 Síndrome de Lunares Oscuros (SLO).....	12
III. Objetivos	17
3.1 Objetivo general	17
3.1 Objetivos particulares	17
IV. Área de estudio	18
V. Materiales y métodos	20
5.1 Toma de las muestras	20
5.2 Proceso de laboratorio	21
5.2.1 Descalcificación.....	21
5.2.2 Inclusión.....	21
5.2.3 Tinción en hematoxilina-eosina y montaje de las muestras.	22
5.3 Descripción histopatológica y análisis de datos.	22
VI. Resultados	26
6.1 Características anatómicas de <i>Orbicella annularis</i>	26
6.2 Análisis de datos.....	30
6.3 Descripción histológica con y sin SLO	33
VII. Discusión	39
VIII. Conclusiones	43
IX. Aplicación práctica	45
X. Referencias	46
Anexos.....	50
Anexo 1.Catalogo histologico.	50
Anexo 2. Matriz de datos dummy para los análisis multivariados.....	58

Índice de tablas

Tabla 1. Regiones anatómicas para la examinación de un pólipo. (Galloway <i>et al.</i> , 2007)..	4
Tabla 2. Enfermedades relevantes en los corales escleractinios del oceano Atlántico.	9
Tabla 3. Especies reportadas con el signo de lunares oscuros.	16
Tabla 4. Código y estado de salud de las muestras de <i>Orbicella annularis</i> , obtenidas en el Arrecife Tuxpan en el mes de junio del 2018	21
Tabla 5. Caracteres morfológicos sistematizados del Síndrome de Lunares Oscuros en <i>Orbicella annularis</i>	24
Tabla 6. Porcentaje de similitud (SIMPER), de las principales caracteres que contribuyen con la disimilitud entre las muestras con y sin signo.	32
Tabla 7. Matriz de datos de los caracteres morfológicos encontrados en las muestras con y sin signo	58

Índice de fotografías

Fotografía 1 A) Realizando la selección de colonias. B) Fotografía de una parte del sitio “Q9”. C) Fotografía de nódulo de <i>Orbicella annularis</i> sin signo. D) Fotografía de nódulos con signo.	20
Fotografía 2. Corte Longitudinal de <i>Orbicella annularis</i> (4x). A) Región oral. (Ep) Epidermis, (T) Tentáculos y (PSC) Pared superficial del cuerpo; B) Región media, (Act) Actinofaringe, (CvGv) Cavidad Gastrovascular, (FlmMs) Filamento Mesenterico, (BnGl) Banda Cnidoglandular y (Ms) Mesenterio; C) Región aboral, (Cldrm) Calicodermis y (PBC) Pared basal del cuerpo; D) Región de la coenenquima, (Cnq) Coenenquima, (CnGv) Canal Gastrovascular, (PSC) Pared superficial del cuerpo y (PBC) Pared basal del cuerpo Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	27
Fotografía 3. Corte transversal <i>Orbicella annularis</i> 4x. (SpP) <i>Septum primario</i> , (SpS) <i>Septum secundario</i> , (Oov) Ovocitos, (Ms) Mesenterio, (Clm) Columnela, (BnCn) Banda	

cnidoglandular, (Cldm) Calicodermis. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.
..... 28

Fotografía 4. Corte Longitudinal *Orbicella annularis* a una escala de 30 µm. A) Coenénquima de un espécimen sin signo del arrecife Carysfort, 1990; muestra una alta densidad de zooxantelas en la capa endodérmica. B) Coenenquima de un espécimen sin signo del arrecife Tuxpan, 2018.A.- (Ec) Ectodermo, (En) Endodermo. B.- (PSC) Pared superficial del cuerpo, (Ep) Epidermis, (CnGv) Canal Gastrovacuar, (Gdm) Gastrodermis, (Cldm) Calicodermis, (PBC) Pared basal del cuerpo y (↑) Zooxantelas. A) Tomada y modificada de Szmant y Gassman, 1990. The effects of prolonged “bleaching” on the tissue biomass and reproduction of the reef coral *Montastrea annularis*. Pag. 220; B) Tomada por Del Angel Lemus, Milagros Olimpia. 29

Fotografía 5. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) sin signo (↑) Epitelio continuo. B) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (4x) con signo (↑) Epitelio discontinuo/degradado. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia. 34

Fotografía 6. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra sin signo (↑) Gastrodermis de la pard superficial del cuerpo, (dirección oral) con una estructura lineal/continua. B) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (40x) de muestra sin signo (Zoo) Zooxantelas, (Gdm) Gastrodermis, (Ep) Epidermis y (PSC) Pared superficial del cuerpo. C)Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (40x) de muestra con signo (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/discontinua. 35

Fotografía 7. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (40x) de muestra sin signo, (Gmt) Gametos simétricos. B) Corte transversal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra con signo con Gametos asimétricos Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia 36

Fotografía 8. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra sin signo, (Cldm) Calicodermis con estructura Lineal/continua y (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/continuo. B) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (4x) de muestra con signo (Cldm) Calicodermis con estructura Lineal/continua y (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/discontinua. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia. 37

Fotografía 9. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra sin signo, (Gdm) Gastrodermis con estructura lineal/continua y (Cldm R) Calicodermis con ruptura denominado con el carácter lineal/discontinuo. B) Corte longitudina de *Orbicella annularis*

(10x) de muestra con signo (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/continua y (Cldm) Calicodermis lineal/continuo. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	38
Fotografía 10 A-D. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Epitelio discontinuo (Ep) Epitelio, (PSC) Pared Superficial del Cuerpo; B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Epitelio continuo (Ep) Epitelio; C) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Epitelio discontinuo/degradado (Ep) Epitelio; D) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Epitelio continuo/degradado (Ep) Epitelio. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	50
Fotografía 11 A-B. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> a una escala de 30 µm. A) Gastrodermis de la región oral con presencia de zooxantelas (Ec) Ectodermo, (En) Endodermo y (↑) Zooxantelas. B.) Corte Longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Gastrodermis de la región oral sin presencia de zooxantelas. A) Tomada y modificada de Szmant y Gassman, 1990. The effects of prolonged “bleaching” on the tissue biomass and reproduction of the reef coral <i>Montastrea annularis</i> . Pag. 220; B) Tomada por Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	50
Fotografía 12 A-C. A) Corte Longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Arreglo en el acomodamiento de las zooxantelas en la gastrodermis. Zoo) Zooxantelas, (Gdm) Gastrodermis, (Ep) Epidermis y (PSC) Pared superficial del cuerpo. B) Corte Longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Secciones de la gastrodermis donde se junta las zooxantelas es denomino como conglomerados. (Zoo) Zooxantelas y (O) Localización del conglomerado; C) Corte Longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Gastrodermis de la pared superficial del cuerpo con las zooxantelas dispersas en el espacio asignado como (↑) difuso. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	51
Fotografía 13 A-D. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Epitelio convexo/continuo. (o)Forma de la (Gdm) gastrodermis; B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Epitelio lineal/continuo. (o)Forma de la gastrodermis; C) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Epitelio lineal/discontinuo. (o)Forma de la gastrodermis; D) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Epitelio convexo/discontinuo. (o)Forma de la gastrodermis separándose de la estructura. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	52
Fotografía 14 A-B. A) Corte Longitudinal <i>Orbicella annularis</i> a una escala de 30 µm. Epidermis continuo sin espacios intraepidemicos. (Ec) Ectodermo, (En) Endodermo y (↑)	

Zooxantelas. B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Epidermis continua con espacios intraepidermicos (↑) abiertos. A) Tomada y modificada de Szmant y Gassman, 1990. The effects of prolonged “bleaching” on the tissue biomass and reproduction of the reef coral <i>Montastrea annularis</i> . Pag. 220; B) Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.....	52
Fotografía 15 A-B. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Cavidad gastrovascular con (O) arreglo celular. B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Cavidad gastrovascular sin (O) arreglo celular y dispersión de las estructuras internas. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.....	53
Fotografía 16 A-B. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Cavidad gastrovascular con presencia de (Gmt) gametos. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Cavidad gastrovascular sin presencia de gametos. (Gdm) Gastrodermis y (Cldm) Calicodermis. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	53
Fotografía 17 A-B. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Cavidad gastrovascular con la forma de los gametos semicircular u ovalada (Gmt) gametos. B) Corte transversal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Cavidad gastrovascular con la forma de con elongaciones en la periferia dando forma de estrellada a los gametos. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.....	53
Fotografía 18. Estructura posiblemente animal no identificada. Ausente o presente. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	54
Fotografía 19 A-D. A) Corte transversal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Región aboral, aladaña al esqueleto. Gastrodermis con forma lineal/discontinuo. (o)Forma de la (Gdm) gastrodermis; Ov) Oovocitos y (↑) Discontinuidad. B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Región aboral, aladaña al esqueleto. Gastrodermis con forma lineal/continuo. (o)Forma de la gastrodermis; C) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Región aboral, aladaña al esqueleto. Gastrodermis con forma convexa/discontinua. (o)Forma de la gastrodermis y (↑) Discontinuidad; D) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Región aboral, aladaña al esqueleto. Gastrodermis con forma convexa/continua. (o) Forma de la gastrodermis. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	55
Fotografía 20 A-B. A) Corte transversal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Presencia de la (Msg) Mesoglea. B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Ausencia de la (Msg) Mesoglea de la (PBC) pared basal de cuerpo. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.....	55

Fotografía 21 A-B. A) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). (PBC) Pared basal del cuerpo, ubicada la (Gdm) y (Cld) Calicodermis con forma lineal/discontinuo. B) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Calicodermis con forma continuo/desprendido; C) Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). Región aboral, (PBC) pared basal del cuerpo con calicodermis lineal/desprendida; D) Corte transversal <i>Orbicella annularis</i> (40x). Calicodermis con forma (↑) discontinua/desprendida. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	56
Fotografía 22. Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (4x). (O) Material celular disperso en la región aboral. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	56
Fotografía 23. Corte longitudinal <i>Orbicella annularis</i> (10x). Presencia de alteraciones celulares cercanas a la (PBC) pared basal del cuerpo en la parte interna del pólipo. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.	57

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. Corte histológico de la Coenenquima. Cn) cnidocito, NA) núcleo de células, NV) núcleo celular de zooxantela, CL) cloroplasto, PY) pirenoide. Tomada y adaptada de Allemand <i>et al.</i> (2011). Coral Calcification, Cells to Reefs. Pág 121	4
Ilustración 2. Diagrama tridimensional de un pólipo. Epidermis, mesoglea y gastrodermis. Tomada y traducida de Galloway <i>et al.</i> (2007), Coral disease and health workshop: coral histopathology II. Pag. 19	5
Ilustración 3. Anatomía de un pólipo de coral esclerectinio. Tomada y traducida de Galloway <i>et al.</i> (2007), Coral disease and health workshop: coral histopathology II. Pág. 11.....	6
Ilustración 4. Términos de descripción sobre la distribución, localización, bordes, formas y relieves de las lesiones en los corales enfermos. Tomada y adaptada de Work y Aeby (2006) Systematically describing gross lesions in corals. Pág 157.	8
Ilustración 5. Tinción de Hematoxilina y Eosina. Tomada y adaptado de Rodríguez-Villalobos (2011), Estado de salud de colonias de <i>Pocillopora</i> en el Pacífico Mexicano, 140 Pág.....	23

Índice de figuras

Figura 1. Parte Sur del Sistema arrecifal Lobos-Tuxpan. Sitio de muestreo marcado con círculo rojo. Realizado: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia	19
Figura 2. Escalamiento multidimensional no métrico (n-MDS). Se muestra diferencia con los datos aleatorios (AL_E; AL_S) en comparación con los datos observados (Sin signo; Con signo) en el espacio 2D.	30
Figura 3 (A-E). Los análisis A y D muestran como una de las muestras con presencia de signo se acerca mas o es mas parecida a las muestras sin signo. Los análisis B y E se observa como una de las muestras del grupo con signo se acerca al grupo sin signo. Los análisis de la A al E el grupo con signo no se entre mezcal con los grupos creados de los datos aleatorios (AL_C; AL_E)	31
Figura 4. Escalamiento multidimensional no métrico (n-MDS). Se muestra diferencia entre ambos grupos en el espacio 2D, mostrando más agrupados las muestras con signo en comparación con las muestras sin signo.	32

Resumen

En los últimos años se han registrado nuevos brotes en las enfermedades de corales, junto a la persistencia y aceleración en el desarrollo de los signos. En el caso de los arrecifes veracruzanos, que son considerados los más afectados en México, también han presentado pérdidas en su cobertura por diversidad de factores. El Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan se presenta con una alta prevalencia de Síndrome de Lunares Oscuros (37.74%) afectando a la especie *Orbicella annularis*, considerada principal especie constructora en el SALT, por lo que comprender la función de la enfermedad permitirá estar preparados ante cualquier circunstancia para el control y manejo de la enfermedad. Para su estudio se utilizaron un número de muestras iguales de corales con signo y corales sanos, que permitió una comparación estructural, desarrollando una estandarización en base criterios descriptivos, asignando a cada cambio estructural un nombre y tabulando la frecuencia con la que fue observado cada criterio, para después hacer un ejercicio estadístico. Los resultados mostraron que la gastrodermis de la pared superficial del cuerpo de la región oral y la gastrodermis de la coenenquima presentaron cambios morfológicos, además de diferencias en la morfología de los gametos, creando la hipótesis de que la enfermedad afecte la reproducción. Por lo que se considera que el ejercicio estadístico permite el desarrollo de hipótesis a las patologías en corales además de que el estudio nos indica en que regiones debemos enfocarnos al aplicar otros tipos de estudios biomédicos. Incluyendo al final un atlas histológico de *Orbicella annularis* para que en futuros estudios sirva como punto de comparación o guía en estas u otras enfermedades.

Palabras clave: Histopatología, Síndrome-Lunares-Oscuros, *Orbicella annularis*

I. Introducción

Los arrecifes de coral son estructuras biogénicas, donde participan una gran variedad de organismos (microscópicos y macroscópicos) los cuales dependen unos de otros en un delicado balance. Por ejemplo: los corales constructores generan un hábitat para los peces herbívoros y estos a su vez controlan el crecimiento de las algas, limitando su cobertura y evitando la competencia del espacio con los corales (Apdillah *et al.*, 2020). Estos ecosistemas pueden desarrollarse en aguas con diferentes temperaturas, el agua del Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan (SALT) puede tener una temperatura de 30°C en verano y 17°C en invierno (CONANP, 2014) y se encuentran distribuidos en áreas tropicales (23° Latitud Sur y 23° Latitud Norte) y subtropicales (40° Latitud Sur y 40° Latitud Norte) del mundo (UNEP-WCMC *et al.*, 2021)

En el caso de la República Mexicana los arrecifes de coral se encuentran en las siguientes regiones: 1) Golfo de California y oeste del Pacífico mexicano, 2) Archipiélago de Revillagigedo, 3) Islas Mariás, 4) Costa del Pacífico Sur, 5) Golfo y banco de Campeche y 6) Caribe mexicano (Cederstav *et al.*, 2015). Además, su distribución depende de diferentes factores como son: temperatura, luz, salinidad, sedimento, oleaje, erosión del aire en las partes donde la marea es baja y profundidad (Karleskint *et al.*, 2012) y cabe comentar, que los corales duros (Orden: Scleractinia) son los principales constructores arrecifales, los cuales permiten la generación de estos ecosistemas (Veron, 2013)

La formación de una colonia de coral comienza desde la unidad funcional llamada pólipo (Begon *et al.*, 2016). Dichos pólipos, son organismos diblásticos (Větvička y Šíma, 1998), los cuales se encuentran conectados entre si por un canal gastrovascular permitiendo la comunicación, el paso de nutrientes y la unión entre ellos (Work y Meteyer, 2014). Aunado a lo anterior los pólipos poseen la capacidad de segregar en su parte aboral carbonato de calcio (CaCO_3) formando un esqueleto que acrece y contribuye al desarrollo del ecosistema arrecifal (Laborda, 2018). Es importante indicar que, dentro de los tejidos de los pólipos se encuentran dinoflagelados simbioses llamados zooxantelas, las cuales hacen fotosíntesis y proveen de carbohidratos al coral, mientras que a cambio el pólipo le proporciona nitrógeno y dióxido de carbono (Karleskint *et al.*, 2012).

Desafortunadamente, en todo el planeta existen reportes de la presencia de diversas enfermedades que afectan a los corales: banda amarilla, manchas oscuras, viruela blanca, banda negra, blanqueamiento, entre otras (Gil-Agudelo *et al.*, 2009; Harvell *et al.*, 2007). Por

su parte, en la República Mexicana se han reportado diversas enfermedades en los corales, siendo los más impactados los que se encuentran en las costas veracruzanas (Moriarty *et al.*, 2020). Como dato importante se puede comentar, que en 2016 se reportó que alrededor del 30% de los arrecifes coralinos del país se encuentran severamente dañados y se estima que para el 2030 podría perderse el 60% de ellos, lo anterior como una consecuencia de los fenómenos naturales y causas antropogénica (contaminación, cambio climático, sobrepesca, entre otros) (Pérez-Verdin *et al.*, 2016).

Dentro de las especies de corales más afectadas por las enfermedades mencionadas se encuentran *Acropora palmata*, *Orbicella annularis*, *Siderastrea siderea*, *Orbicella faveolata* y *Montastraea cavernosa*. Como un ejemplo de estos, se encuentra el arrecife Tuxpan, localizado en la parte sur del Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan (SALT), donde dominan por las especies *O. annularis* y *Orbicella faveolata* (González-Gándara y Salas-Pérez, 2019); las especies cuales se ha mostrado una alta prevalencia del Síndrome de Lunares Oscuros (SLO) (37.74%) (García-Ayala, 2017). Aun siendo afectada por SLO mantiene su dominancia *O. annularis*, como también lo es en el golfo de México y el Caribe, debido a que puede resistir al estrés térmico, a la turbidez y al sedimento (Loya, 1976) además de que a su relación con el simbiote (zooxantela) es diferente, mencionada como “flexible” debido a que puede cambiar la abundancia del simbiote dentro del tejido con más facilidad que otras especies (Kennedy *et al.*, 2019).

Sin embargo y a pesar de la relevancia ecosistémica de *O.* y su grado de afectación por enfermedades coralinas tales como SLO, existen a nivel mundial pocos estudios histopatológicos que describan y clasifiquen las lesiones causadas por el SLO en esta especie (Work y Meteyer, 2014). El presente estudio se desarrolló como una aportación que ayude a describir y sistematizar las lesiones tisulares que se encuentran en pólipos de *O. annularis* afectados por el SLO.

II. Antecedentes

2.1.- *Orbicella annularis*

La especie *Orbicella annularis* (Ellis & Solander, 1786) anteriormente fue clasificada con el género *Montastrea*, cambió su taxonomía en el 2012 a Clase: Anthozoa; Subclase: Hexacorallia; Orden: Scleractinia; Familia: Merulinidae; Género: *Orbicella*; Especie: *Orbicella annularis* (Ellis y Solander, 1786). Tiene una distribución en 30 países del Caribe, sur de Florida, Bahamas y Bermudas (Budd *et al.*, 2012; Yranzo *et al.*, 2020) y es una de las especies más dominantes en el Golfo de México (Torruco *et al.*, 2021) y los arrecifes de Veracruz (Gil-Agudelo *et al.*, 2020). Finalmente, y debido a su adaptabilidad, las colonias de *O. annularis* se pueden distribuir en profundidades entre 1 a 20 metros y son consideradas una de las especies constructoras más importantes por la forma que desarrolla su exoesqueleto (Yranzo *et al.*, 2020). Actualmente se encuentra en la lista roja de la IUCN con el estatus de “Peligro de extinción”, mientras que la NOM-059-SEMARNAT-2010 la clasifica como “Amenazada”.

2.1 Anatomía e histología del pólipo

Las colonias de corales tienen como unidad fundamental a un módulo llamado “Pólipo”, el cuál posee una estructura diblástica, lo que significa que tiene una epidermis (ectodermo) y una gastrodermis (endodermo) y los divide una estructura tisular denominada mesoglea la cuál puede variar de tamaño y espesor dependiendo la parte del pólipo donde se encuentre. Es importante mencionar que en el 2007, Galloway *et al.* dividieron anatómicamente a los pólipos en tres regiones; a) Coenénquima, b) pólipo y c) esqueleto (Tabla 1). Además, Berzins *et al.* (2021) determinaron que estas regiones se componen histológicamente de tres tipos de epitelios: a) integumentario, b) exoesqueleto y c) digestivo).

La coenenquima tiene dos paredes divididas por el canal gastrovascular, el cual le permite el paso de nutrientes y comunicación entre los módulos. En la parte interna del pólipo está la cavidad gastrovascular que contiene el mesenterio, compuesto por la mesoglea y la gastrodermis. Esta última le da soporte y aumenta el tamaño del pólipo y es dónde generalmente se encuentran los gametos. Las partes que se van extendiendo al margen del mesenterio son los filamentos mesentéricos, los cuales forman las bandas cnidoglandulares, donde están los nematocistos y enzimas digestivas. En la parte aboral esta una capa epitelial

llamada calicodermis que secreta carbonato de calcio y forma el exoesqueleto (Ilustración 1)
(Berzins *et al.*, 2021).

Tabla 1. Regiones anatómicas para la examinación de un pólipo. (Galloway <i>et al.</i> , 2007)		
Regiones	Estructuras	Parte Anatómica
Coenenquima	Canal gastrovascular	Pared superficial del cuerpo
		Pared basal del cuerpo
Pólipo	Oral	Tentáculos
		Disco oral, Boca
		<i>Peristoma</i>
		Actinofaringe
	Aboral (cuerpo)	Pared (Superficial y basal)
		Mesenterio (Completo e incompleto)
		A) Proximal
		B) Gonadal
		C) Filamentos (lóbulos y banda cnidoglandulares)
	Cavidad gástrica	
Esqueleto	Septum Columnella Corallum Base	

Nota: Adaptado de Galloway *et al.* (2007), Coral disease and health workshop: coral histopathology II. Pag. 20.

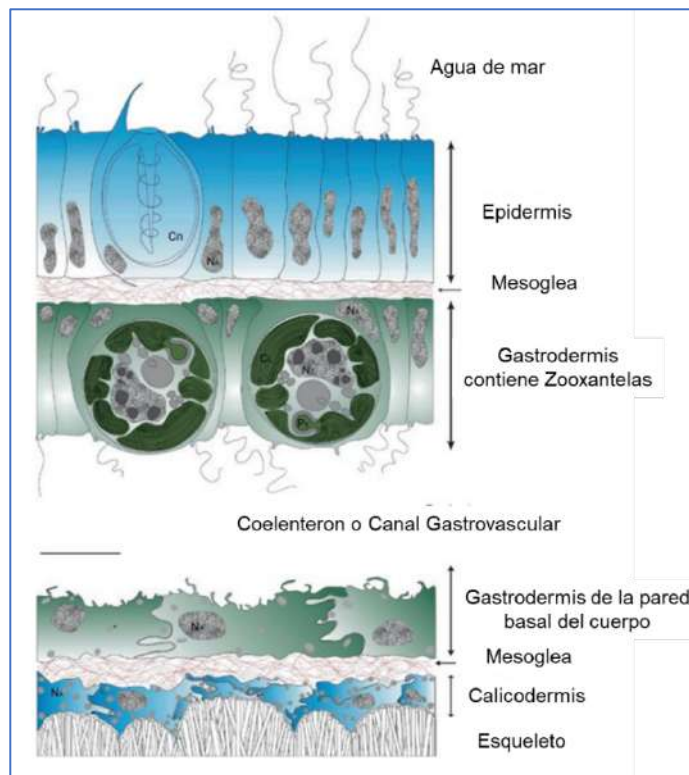


Ilustración 1. Corte histológico de la Coenenquima. Cn) cnidocito, NA) núcleo de células, NV) núcleo celular de zooxantela, CL) cloroplasto y PY) pirenoide. Tomada y adaptada de Allemand *et al.* (2011). Coral Calcification, Cells to Reefs. Pág 121

Los pólipos no tienen estructuras respiratorias, excretorias o circulatorias. La respiración y excreción la realizan a través de cambios directos por la membrana celular a través del proceso de transporte activo y pasivo. Además, no poseen un sistema inmunológico adquirido, pero si tienen mecanismos innatos que le proporciona la protección como es el mucus, los amebocitos y células pleomorfes (Berzins *et al.*, 2021).

En la pared superficial del cuerpo que está en contacto con el agua, se localiza el epitelio integumentario, dividido en tres capas: a) epidermis, b) mesoglea y c) gastrodermis. En la epidermis se encuentran: mucocitos, nematocitos, espirocitos, neuronas, células glandulares, células de pigmento y epitelio muscular (Ilustración 2) (Galloway *et al.*, 2007). En el mismo nivel, están los tentáculos que tienen una estructura bulbosa en la punta llamada acrosfera donde se ubican los cnidocitos (nematocitos y espirocitos), siendo estos uno de sus mecanismos inespecíficos de protección (Figura 3) y finalmente en dirección aboral se localiza la boca, dónde se conecta a la peristoma con la actinofarige (Berzins *et al.*, 2021; Galloway *et al.*, 2007).

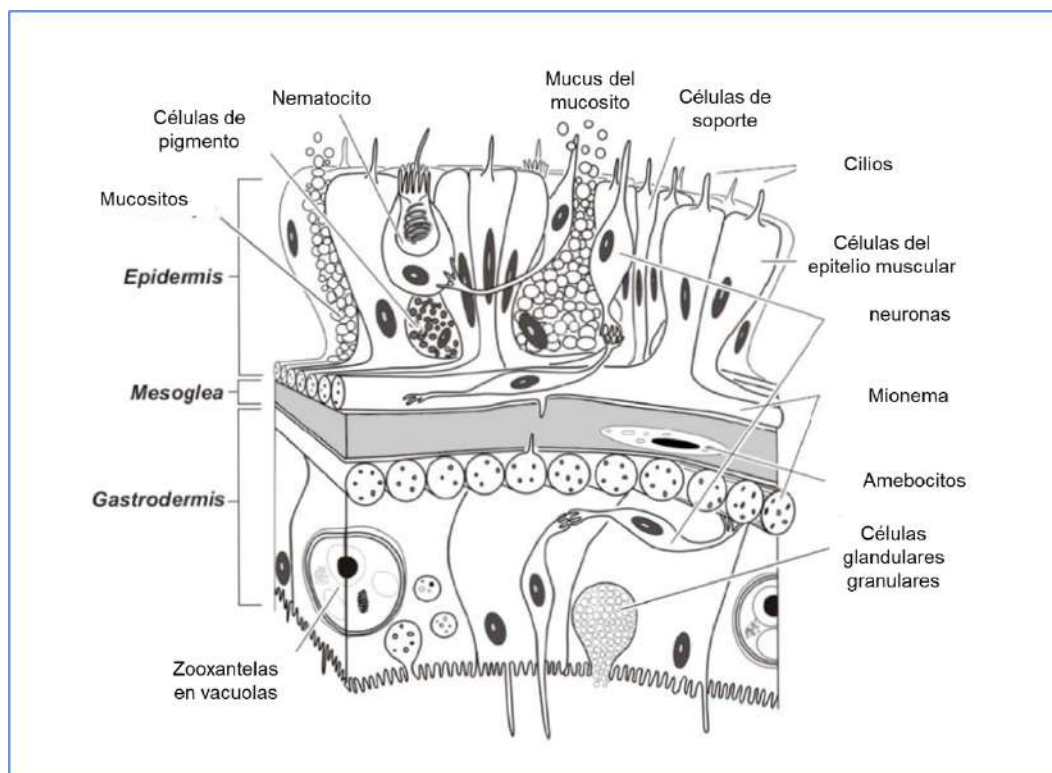


Ilustración 2. Diagrama tridimensional de un pólipo. Epidermis, mesoglea y gastrodermis. Tomada y traducida de Galloway *et al.* 2007, *Coral disease and health workshop: coral histopathology II*. Pag. 19

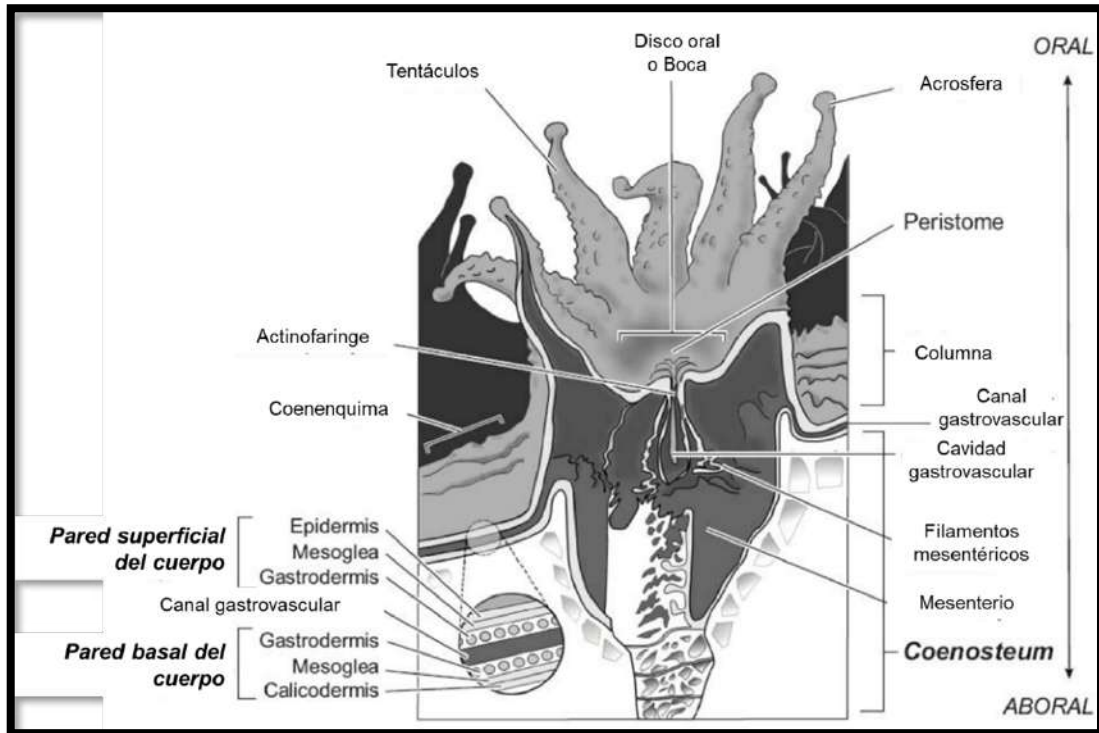


Ilustración 3. Anatomía de un póipo de coral esclerectinio. Tomada y traducida de Galloway *et al.* (2007), *Coral disease and health workshop: coral histopathology II*. Pág. 11.

Por su parte, la Mesoglea es una capa acelular que sirve como una estructura de soporte y está formada de una matriz amorfa de proteína hidratada y polímeros de polisacáridos combinadas con delgadas fibras de colágeno (Berzins *et al.*, 2021). Además, en la gastrodermis se encuentran las zooxantelas y se desarrolla el mesenterio, dividiéndose en dos tipos de estructuras, una completa, la cual se conecta con la actinofaringe y otra que no se llega a conectar (denominado filamento incompleto) (Galloway *et al.*, 2007). Adicionalmente, en el mesenterio se extienden los filamentos mesentéricos compuesto por células ciliadas columnares que son útiles para la digestión y células granulares acidófilas (contienen enzimas digestivas y cnidocitos) para finalizar con las bandas cnidogladulares donde las células son cilíndricas, fagocíticas y pueden degradar partículas (Galloway *et al.*, 2007). Adicionalmente, en la gastrodermis se localiza el epitelio muscular el cual es el responsable de la contracción del póipo y de su movimiento fluido (Figura 3) (Berzins *et al.*, 2021).

En la parte media del mesenterio, se desarrollan los gametos, dónde es relevante indicar que en las especies que desovan, la mesoglea y la gastrodermis rompen su estructura para dar paso a los gametos y estos entran a la cavidad gastrovascular para después ser

expulsados por la boca. Además, en algunas especies en etapa reproductiva se pueden observar embriones y plánulas larvales dentro del pólipo (Berzins *et al.*, 2021). Por último, los epitelios que forman parte del exoesqueleto se dividen en: a) Gastrodermis, b) mesoglea y c) calicodermis, dónde esta última está compuesta por calicoblastos y desmocitos, los cuales unen al pólipo con el sustrato (Berzins *et al.*, 2021).

2.2 Enfermedades en corales

El estudio en las enfermedades de los corales empezó alrededor de los años 80's con los trabajos del Dr. Arnfried Antonius considerado como el pionero en esta área (Woodley *et al.*, 2016). Posteriormente, Work y Aeby en 2006 realizaron una descripción sistemática de las lesiones y con base en ella identificaron y clasificaron las enfermedades (Ilustración 4). Pero fue hasta el 2016, dónde un estudio realizado por Bruckner determinó que hasta ese momento se tenían descritos 40 signos. Posteriormente, Jordán-Garza *et al.*, (2017) relacionaron los signos con las enfermedades más importantes que están afectando a los corales en el Océano Atlántico (Tabla 2).

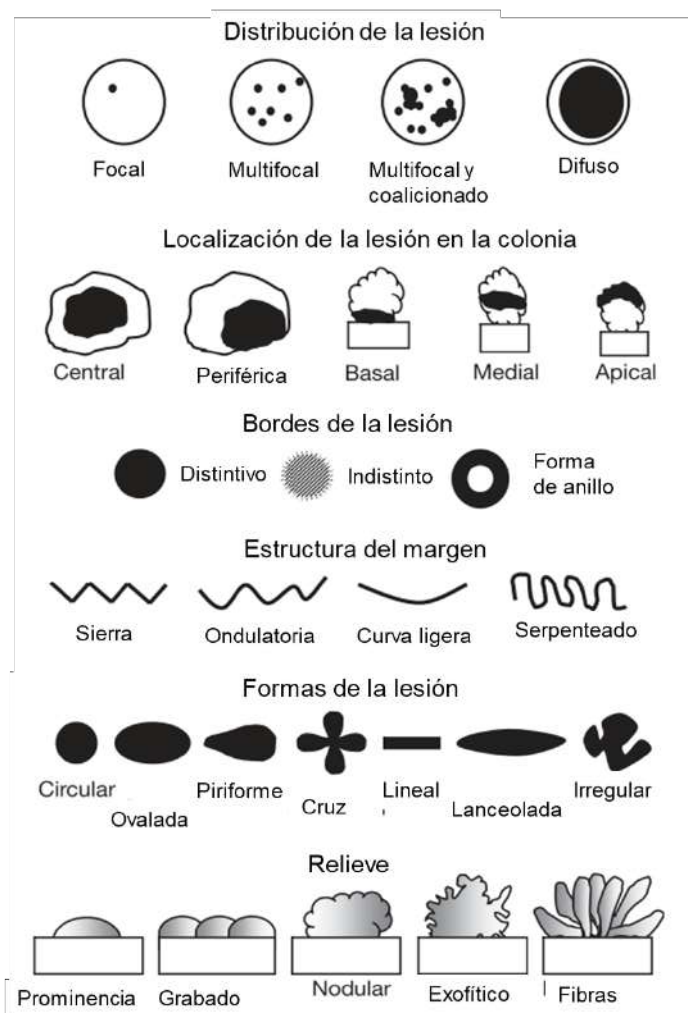


Ilustración 4. Términos de descripción sobre la distribución, localización, bordes, formas y relieves de las lesiones en los corales enfermos. Tomada y adaptada de Work y Aeby (2006) *Systematically describing gross lesions in corals*. Pág 157.

Tabla 2. Enfermedades relevantes en los corales escleractinios del oceano Atlántico (Jordán-Garza et al., 2017)

Enfermedad	Signos	Hospedero	Posible Patógeno	Transmisión	Crecimiento	Factores ambientales
1) Banda Negra	Banda negra o roja oscura, adyacente al tejido en apariencia sano y al esqueleto recientemente expuesto.	Múltiples especies, <i>Millepora</i> , <i>Octocorales</i> .	Consorcio de microorganismos, con al menos 3 especies de cianobacterias.	Por el agua, favorece tejido lesionado; los peces pueden actuar como vector.	> 2 cm/día	Nutrientes, luz contaminación
2) Infección por ciliados I	Banda negra moteada sobre el esqueleto recientemente expuesto a un costado del tejido en apariencia sano.	Acropóridos y especies masivas; al menos 25 especies.	Ciliado <i>Halofolliculina</i> sp.	Columna de agua; la infección es facilitada por tejido lesionado.	~0.03 cm/día	Temperatura, densidad de hospederos
3) Banda blanca tipo I	Banda blanca creada por una rápida pérdida de tejido desde la base de la colonia; puede presentar una pequeña banda de tejido blanqueado.	<i>Acropora. palmata</i> <i>A. cervicornis</i>	Bacterias <i>Vibrio</i> y Rickettsiales han sido asociadas al signo	Caracol <i>Coralliophila abbreviata</i> ; a través del agua en corales con heridas; contacto directo.	2 cm/día	Contaminación y temperatura
4) Banda Blanca tipo II	Banda blanca creada por una rápida pérdida de tejido desde la base de la colonia; presenta una banda de tejido blanqueado antes del esqueleto expuesto.	<i>A. cervicornis</i>	<i>Vibrio charchariae</i>	Inoculación en laboratorio.	5 cm/día max 9.33 cm/día	Contaminación y temperatura
5) Infección por ciliados 2	Signo blanco en apariencia similar a una plaga; al examinarse de cerca es posible ver ciliados nadando sobre el esqueleto cerca del tejido coralino	Observado en <i>Orbicella faveolata</i> , <i>Siderastrea siderea</i> en condiciones de laboratorio	Tres especies de ciliados móviles. Transmisión	Transmisión por el agua.	~0.26 cm/día	Poco movimiento de agua
6) Plaga blanca tipo I	Signo en apariencia similar a las bandas blancas, pero se observa en especies distintas de los acroporidos; una línea separa el tejido aparentemente sano del esqueleto blanco recientemente expuesto y en perfectas condiciones.	Descrita en 17 especies de corales escleractineos	Virus y α protobacteria	Desconocido	~0.3 cm/día	Luz

7) Plaga blanca tipo 2	Signo en apariencia similar a las bandas blancas, pero se observa en especies distintas de los acroporidos; una línea separa el tejido aparentemente sano del esqueleto blanco recientemente expuesto y en perfectas condiciones; inicia en la base de las colonias. Se diferencia por su tasa de avance.	Corales masivos e incrustantes (40 especies).	Aurantimonas coralicida? (resultados conflictivos), Sphingomonas.	Columna de agua, algas (<i>Halimeda opuntia</i>).	max. 2 cm/día	Luz
8) Plaga blanca tipo 3	Signo en apariencia similar a las bandas blancas pero se observa en especies distintas de los acroporidos; una línea separa el tejido aparentemente sano del esqueleto blanco recientemente expuesto y en perfectas condiciones; inicia en la base de las colonias. Se diferencia por su tasa de avance.	Corales masivos (~4 especies)	<i>Aurantimonas coralicida</i> , <i>Sphingomonas</i>	Desconocido	Mas rápido que otras plagas	Desconocido
9) Viruela blanca	Parches de esqueleto blanco recientemente expuesto en medio de tejido en apariencia sano.	<i>A. palmata</i> <i>A. cervicornis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	Vector: <i>Coralliophila abbreviata</i> ; heces de <i>Sparisoma viride</i> .	2.5 cm/día	Temperatura del agua, eventos de blanqueamiento.
10) Banda amarilla	Banda o mancha de color amarillo en el tejido del coral; en ocasiones con un anillo blanqueado y mortalidad asociada (por lo general no reciente). La banda des de un ancho considerable (> 3 cm).	<i>Orbicella</i> spp, otras especies masivas.	Consorcio de bacterias <i>Vibrio</i> .	Inoculaciones en laboratorio, no observada en estudios de campo experimentales. ~0.02	~0.02 cm/día	Temperatura
11) Lunares Oscuros	Manchas oscuras (café/ morado) de forma irregular en el tejido coralino que pueden asociarse con una zona de mortalidad generalmente cubierta por algas, debido a su lenta progresión.	Al menos 8 especies de corales masivos.	Consorcio de bacterias <i>Vibrio</i> . <i>Vibrio carchariae</i> , sin cumplir los postulados de Koch	Se ha propuesto el modo de transmisión por contacto directo.	~0.1 cm/día	Temperatura, profundidad
12) Signos blanqueados	Manchas o bandas de tejido blanqueado con bordes bien definidos en el tejido del coral.	Varias especies de corales masivos y <i>Acropora</i> spp.	Desconocido	Desconocido	1.4 cm/año en <i>Orbicella</i> spp	Desconocido

13) Signos amarillo	El tejido presenta un color amarillo generalmente en una banda delgada en el borde del tejido o como una mancha en medio del tejido sano, con o sin zona de mortalidad asociada	<i>Orbicella</i> spp	Desconocido	Desconocido	1.1 cm/año	Desconocido
14) Blanqueamiento	Pérdida de zooxantelas o sus pigmentos con tejido intacto. De manera general toda la colonia se ve afectada, pero puede comenzar afectando solamente una parte. Si las condiciones ambientales perduran la colonia puede sufrir mortalidad parcial o total.	Puede afectar a una gran diversidad de organismos que presentan simbiosis con zooxantelas.	Virus y α protobacteria	Los estudios sugieren que no es transmisible.	Mortalidad parcial o total	Temperatura, luz, susceptibilidad de las especies
15) Anomalías de crecimiento	Crecimiento anómalo de tejido y esqueleto coralino, acompañados por adelgazamiento del tejido, incremento en la porosidad del esqueleto, pérdida de células secretoras de mucus y nematocistos, disminución o ausencia de zooxantelas, reducción de la fecundidad de la colonia y pérdida o degeneración de pólipos	Se han registrado en especies del género <i>Acropora</i> , <i>Madrepora</i> , <i>Montastraea</i> , <i>Diploria</i> , <i>Siderastrea</i> , <i>Mycetophyllia</i> , <i>Leptastrea</i> y <i>Porites</i>	Algunos microorganismos podrían estar involucrados, bacterias.	Contacto directo, columna de agua.	Lento	Desconocido
16) Pérdida de tejido de coral duro	Áreas focales, multifocales, localmente extensas a difusas de pérdida de tejido aguda a subaguda distribuidas en la base, en la periferia o en ambas. En algunos casos, los tejidos que bordean áreas de pérdida crónica de tejido tienen bandas indistintas de palidez que progresan a pigmentación normal alejándose del esqueleto desnudo y se caracteriza por un esqueleto intacto blanco recién expuesto. Pueden comenzar como parches o manchas dentro del tejido intacto que pueden aumentar de tamaño y fusionarse.	Especies más susceptibles <i>Colpophyllia natans</i> <i>Dendrogyra cylindrus</i> <i>Dichocoenia stokesii</i> <i>Diploria labyrinthiformis</i> <i>Eusmilia fastigiata</i> <i>Meandrina meandrites</i> <i>Pseudodiploria strigosa</i> <i>Pseudodiploria clivosa</i>	Desconocido	Puede ser contacto directo e indirecto	1 a 5 cm del signo	Desconocido

Nota: Tomada y adaptada de: Jordán-Garza et al. (2017). Clave para el Diagnóstico en Campo de Enfermedades de Corales Escleractinios en El Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan, Veracruz. Pág. 266 – 267 y NOAA, (2018). Stony Coral Tissue Loss Disease Case Definition. Pág. I-I

Como se observa en la tabla anterior, se reconocen 16 enfermedades de importancia en el golfo de México, en específico para los arrecifes del SALT (Jordán-Garza *et al.*, 2019). Además, cabe indicar que en el caso particular de *O. annularis*, esta especie es afectada por ocho enfermedades (Bruckner, 2016). Específicamente, en el Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan (SALT) se tienen registros de un total de 10 enfermedades y dónde se muestra una mayor incidencia y prevalencia de estas patologías en *O. annularis* y *Colpophyllia natans* (García-Ayala, 2017).

2.3 La histología como comienzo a un diagnóstico

La histología en los corales se empezó a desarrollar en 1931 por Charles Maurice Young, aportando gran parte al conocimiento de su anatomofisiología y explicando el comportamiento de las zooxantelas, además de incluir la primera descripción histológica de blanqueamiento (Yonge y Nicholls, 1930). Posteriormente, Peters *et al* (1981), estudio por primera vez la toxicidad del petróleo en los corales y durante más de 30 años analizó diversas patologías y generó las primeras hipótesis del fenómeno “sedimentación-estresor” (Woodley y Harley, *et al.*, 2016).

Es importante resaltar que, en el caso de las enfermedades conocidas de los corales, gran parte las investigaciones que se han realizado para llegar a un posible diagnóstico patológico, han tenido resultados incompletos, ya que, a pesar de los grandes esfuerzos, no han concluido con claridad; ¿Qué o quién es el agente etiológico? ¿Cuál es la naturaleza de dicho agente? ¿Cuál es el proceso patológico que genera las lesiones tisulares? ¿Qué factores (ambientales, genéticos y contaminantes) predisponen o coadyuvan en la morbilidad y la mortalidad de la enfermedad? (Bourne, 2005; Ainsworth *et al.*, 2008; Muller y Van-Woesik, 2009; Mera y Bourne, 2018 y Moriarty *et al.*, 2020).

Debido esta complejidad, se propone el uso de enfoques biomédicos y como primer paso la realización de estudios histológicos de los corales (Pollock *et al.*, 2011), los cuales son una excelente herramienta para describir las lesiones anatomohistopatológicas de los pólipos (Work *et al.*, 2008).

2.4 Síndrome de Lunares Oscuros (SLO)

El SLO se menciona por primera vez en 1990 llamándolo medallones o medallones mostaza (Solano *et al.*, 1993). Posteriormente, Díaz *et al* (1995) lo renombran como “Enfermedades

de Lunares Oscuros”, conocido en inglés “Dark Spots Disease” y finalmente se le reconoce como un síndrome, llamándolo como “Síndrome de Lunares Oscuros”.

A nivel mundial, se han reportado casos de SLO en 23 países, incluyendo el mar Caribe, Brasil y en arrecifes del Indo-Pacífico (Work y Weil, 2016). En el Golfo de México se han reportado en total de 18 especies de corales con SLO, de las cuales en cinco se ha asociado con hongos endolíticos (Carricart-Ganivet *et al.*, 2011; Kellogg *et al.*, 2014).

El nombre de SLO se debe por su forma de manchas (o lunares) en diferente rango de colores (púrpura, marrón o café). Las características son un conjunto de manchas pequeñas, redondeadas que se tornan de diferentes colores llegando a ser oscuras, variando de tamaño con el paso del tiempo, en ocasiones se observan en la superficie del coral una depresión, mientras que en otro caso se expande un anillo oscuro, localizado alrededor de la zona muerta o necrosada (Garzón-Ferreira y Gil-Agudelo, 1998) Su patogenia es crónica ya que la lesión tisular que presenta el signo se desarrolla lentamente (<2 cm/mes), generando posteriormente la necrosis del tejido afectado (<1 cm/mes) (Work y Weil, 2016).

La transmisión del agente etiológico del SLO, podría ser directa (colonia-colonia) aunque este resultado solo se ha observado *in vitro*, mientras que en la transmisión *in situ*, se tiene la hipótesis de que, entre colonias cercanas que comparten material filogenético “*propenso*” a presentar el signo, una posible forma de transmisión puede ser a través de las corrientes de agua, por lo que el ambiente juega un papel importante para el crecimiento y desarrollo de esta patología (Randall *et al.*, 2016 y García-Benítez, 2018).

Existe una relación entre la salud de los corales con la contaminación ambiental y los cambios en la temperatura del agua (Randall y Van Woesik, 2017; Wang *et al.*, 2018) cambiando la microbiota bacteriana normal y/o algún proceso inmune (Muller y Van Woesik, 2012). Pero en el SLO, los factores bióticos y abióticos están involucrados en la incidencia y prevalencia de la enfermedad (Kerr, 2005). Por ejemplo los factores abióticos (temperatura del agua, turbidez, sedimento, luz, entre otros) varían la patogenicidad de la noxa o el agente causante de las lesiones observadas en el SLO (Porter *et al.*, 2011). Se ha observado que los cambios estacionales que con llevan a cambios de temperatura, haciendo que cambie la prevalencia del SLO, (Gil-Agudelo y Garzón-Ferreira 2001). teniendo un aumento en esta durante los meses donde la temperatura del agua es más cálida, también el incremento de algas, aumentan la prevalencia del SLO al generar una alteración en la comunidad bacteriana (Zaneveld *et al.*, 2016)

Debido al comportamiento patológico del SLO (lento avance, persistente con el tiempo y observable a mediano-largo plazo) su estudio no ha sido prioritario y se tienen pocas investigaciones y métodos diagnósticos los cuales puedan ayudar a entender mejor su patogenia (Montilla *et al.*, 2019; Shore y Caldwell, 2019). No obstante, no quiere decir que una patología crónica sea de menos relevancia, por el contrario, su importancia radica en que disminuye la salud de los corales de manera constante, permitiendo la entrada a microorganismos oportunistas y/o el desarrollo de procesos de degradación tisular, por lo que se recomienda considerarla como prioritaria (Porter *et al.*, 2011).

En cuanto a los estudios realizados de SLO, se puede indicar que se ha descrito en 17 especies de corales (Tabla 3), en los cuales se han realizado diversidad de métodos para llegar a un diagnóstico que indique un posible agente etiológico y/o los procesos de daño tisular que genera este síndrome. Por ejemplo, un estudio dirigido por Gil-Agudelo *et al* (2007) menciona que *Vibrio carchariae*, estaba presente en muestras con SLO, pero durante el proceso de inoculación no se cumplieron los postulados de Koch, lo que no permitió la identificación de la noxa.

Posteriormente, Sweet *et al* (2013), indican que *Rhytisma acernium* fue detectado en los corales que presentaban el signo, considerándolo como el posible agente etiológico que causa las lesiones. Por el contrario, Kellogg *et al.* (2014) realizaron pruebas de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) para identificar a *R. acerinum* en *Siderastrea siderea*. Sus resultados no detectaron la presencia de *R. acerinum*, y por el contrario la presencia de cianobacterias y vibrios aumentaron relativamente en el tejido descolorido y semi-pigmentado.

Por otra parte, Randall *et al.* (2016) en un estudio realizado en tres grupos de acuarios conectadas de manera secuencial, analizaron bacteriológicamente las corrientes de agua en los diferentes ensayos (algunos con corales enfermos y otros sanos). Los resultados registraron cambios en nueve taxones, dónde, la abundancia fue significativamente menor en *Alteromonas*, *Aquabacterium*, *Arthrobacter*, *Bermanella*, *Haliscomenobacter*, *Litoreibacter*, *Oscillatoriales*, *Pseudomonas* y *Sorangiineae*, mientras que aumenta en *Azospirillum* y *Psychroflexus*. En el mismo año, Meyer *et al.* (2016) en muestras de *O. annularis* con y sin SLO, no encontraron diferencia significativa en las especies que componen su carga bacteriana.

Para determinar las lesiones tisulares y la identificación de posibles agentes etiológicos en el SLO, se utilizan comúnmente las tinciones de Hematoxilina-eosina y la tinción de Grocott, siendo esta última la que permite observar una tinción positiva ante paredes irregulares filamentosas, demostrando la presencia de hongos (Work y Weil, 2016). En cuanto a los estudios histopatológicos que existen del SLO se observa que, durante su desarrollo en los pólipos, el simbiote muestra cambios morfológicos notables. Por ejemplo, Cervino *et al.* (2001) con técnicas citológicas observaron pigmentos más oscuros y agrandados en las zooxantelas que estaban en el tejido con el signo, sugiriendo que el principal afectado es el simbiote y en segundo plano está el hospedero.

Por su parte, Weil (2004) indicó la presencia de hifas y tejido necrótico en corales que presentan SLO. Adicionalmente, Renegar *et al.* (2007) realizaron diversos análisis con microscopio electrónico de barrido y de transmisión, para ver estructuras que una histología normal no puede detectar, donde observaron que los tejidos de *S. siderea* registraron una reducción en el número de zooxantelas. Además, Work *et al.* (2008) utilizando la tinción de Grocott demostraron la existencia de hipermicosis endolítica en la parte aboral de pólipos con SLO y con la tinción de hematoxilina-eosina describieron la presencia de tejido necrótico cerca de la hipermicosis endolítica, por lo que concluyeron que existe una posible relación entre la lesión tisular y la presencia de hongos.

En adición a lo anterior, Renegar *et al.* (2008) describen en *S. siderea* y *Agaricia agaricites* afectadas por SLO, degradación celular, vacuolización y necrosis. En el caso de *A. agaricites* presenta una degradación celular moderada y vacuolización de la calicodermis, con presencia de células anormales y necrosis, así como organelos internos disrumpidos o residuos de estos. En cuanto al tejido calcificado, este mostraba disminución y anomalías en el aragonito y los cristales explicándose la depresión de la superficie del tejido que se encuentra en la lesión macroscópica (Garzón-Ferreira y Gil-Agudelo, 1998) . Además, ubicado en dirección aboral de la calicodermis, se localizaron estructuras fúngicas y la presencia de gránulos de zimógenos. Donde estos últimos también estaban presentes en la capa de la gastrodermis que se encuentra adyacente de la calicodermis, considerándose como un proceso de defensa por parte del pólipo.

Tabla 3. Especies reportadas con el signo de lunares oscuros.

Especie	Agente Asociado
<i>Agaricia agaricites</i> (Linnaeus, 1758)	-
<i>Dichocoenia stokesii</i> (Milne Edwards y Haime, 1849)	-
<i>Diploria labyrinthiformis</i> (Linnaeus, 1758)	-
<i>Pseudodiploria strigosa</i> (Dana, 1846)	-
<i>Isophyllia rigida</i> (Dana, 1846)	-
<i>Meandrina meandrites</i> (Linnaeus, 1758)	-
<i>Orbicella annularis</i> (Ellis y Solander, 1786)	-
<i>Montastraea cavernosa</i> (Linnaeus, 1767)	-
<i>Orbicella faveolata</i> (Ellis y Solander, 1786)	-
<i>Orbicella franksi</i> (Gregory, 1895)	-
<i>Montipora</i> Blainville, 1830	Asociada con hongos endolíticos
<i>Pavona maldivensis</i> (Gardiner, 1905)	Asociada con hongos endolíticos
<i>Pavona varians</i> (Verrill, 1864)	Asociada con hongos endolíticos
<i>Psammocora nierstraszi</i> (Van der Horst, 1921)	Asociada con hongos endolíticos
<i>Siderastrea radians</i> (Pallas, 1766)	-
<i>Siderastrea siderea</i> (Ellis y Solander, 1786)	Asociada con hongos endolíticos
<i>Stephanocoenia intersepta</i> (Esper, 1795)	-

Nota: Tomada y adaptada Work y Weil, (2016) del Cap. 25 Dark Spot Disease, Pág. 357.

III. Objetivos

3.1 Objetivo general

Descripción histológica de lesiones generadas por el síndrome de lunares oscuros en *Orbicella annularis*, proveniente del arrecife Tuxpan, correspondiente al APFF Sistema arrecifal Lobos-Tuxpan, Veracruz.

3.1 Objetivos particulares

- Identificar y describir histológicamente las características morfológicas normales correspondientes a *Orbicella annularis*.
- Identificar y describir histológicamente las lesiones correspondientes a *Orbicella annularis* con signos de lunares oscuros.
- Realizar una comparación de los cambios histológicos que existen entre *Orbicella annularis* con y sin SLO.

IV. Área de estudio

El arrecife “Tuxpan” se encuentra en la parte norte del estado de Veracruz, frente a las costas del municipio del mismo nombre, el cual tiene una población de 155,159 habitantes, con una tasa de crecimiento media de 2.58% entre los años 2010 al 2020 (SIEGVER, 2020). Cabe comentar que este ecosistema pertenece al Área Natural Protegida de Flora y Fauna del Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan (ANPFF SALT), la cual se encuentra dividida en parte norte y sur. Dónde, en la parte norte se localizan los arrecifes Lobos, Enmedio y Blanquilla, y en la parte sur se encuentra los arrecifes Tuxpan, Enmedio, Tanhuijo y Arrecife Pantepec (CONANP, 2014).

El río Tuxpan, el cual comienza en el estado de Hidalgo, pasa por Puebla y termina en Veracruz, desemboca enfrente del arrecife Tuxpan, ubicado a 12.34 km de la desembocadura (CONANP, 2014). Este afluente normalmente mantiene sus niveles de contaminación dentro de lo normal, pero no está considerado para consumo humano, pesca u otra actividad, ya que tiene descargas residuales por parte de la ciudad y zonas agrícolas, además que estas aumentan cuando son las temporadas de lluvias y tormentas (Ramos-Sánchez, 2017).

El arrecife Tuxpan tiene una forma de elipse y posee unas medidas de 500 metros dirección norte a sur y 200 metros dirección este a oeste, con una profundidad de 27 metros, (CONANP, 2014). Este posee un total de 24 especies de corales sclerectinios, de las cuales, en la parte del sotavento existe una dominancia de las especies de *Orbicella annularis* y *Orbicella faveolata*, siendo las más importantes por aportar la mayor cantidad de cobertura (González-Gándara y Salas-Pérez, 2019).

La selección del sitio de muestreo fue basado sobre un estudio de la prevalencia de las enfermedades en los 6 arrecifes del SALT (García-Ayala, 2017). Dónde se distribuyeron al azar 24 cuadrantes de 100 x 100 mts, de los cuales tres correspondieron al Arrecife Tuxpan. A su vez dentro de estos cuadrantes se realizó una retícula de 10 x 10 mts y se seleccionó la que presentara una mayor abundancia de *O. annularis* designándole el código “Q9” (coordenadas de 21° 1’ 54.08” N y 97° 11’ 59.32” O), posteriormente se colectaron las muestras a una profundidad entre 7 y 9 metros (Figura 1).

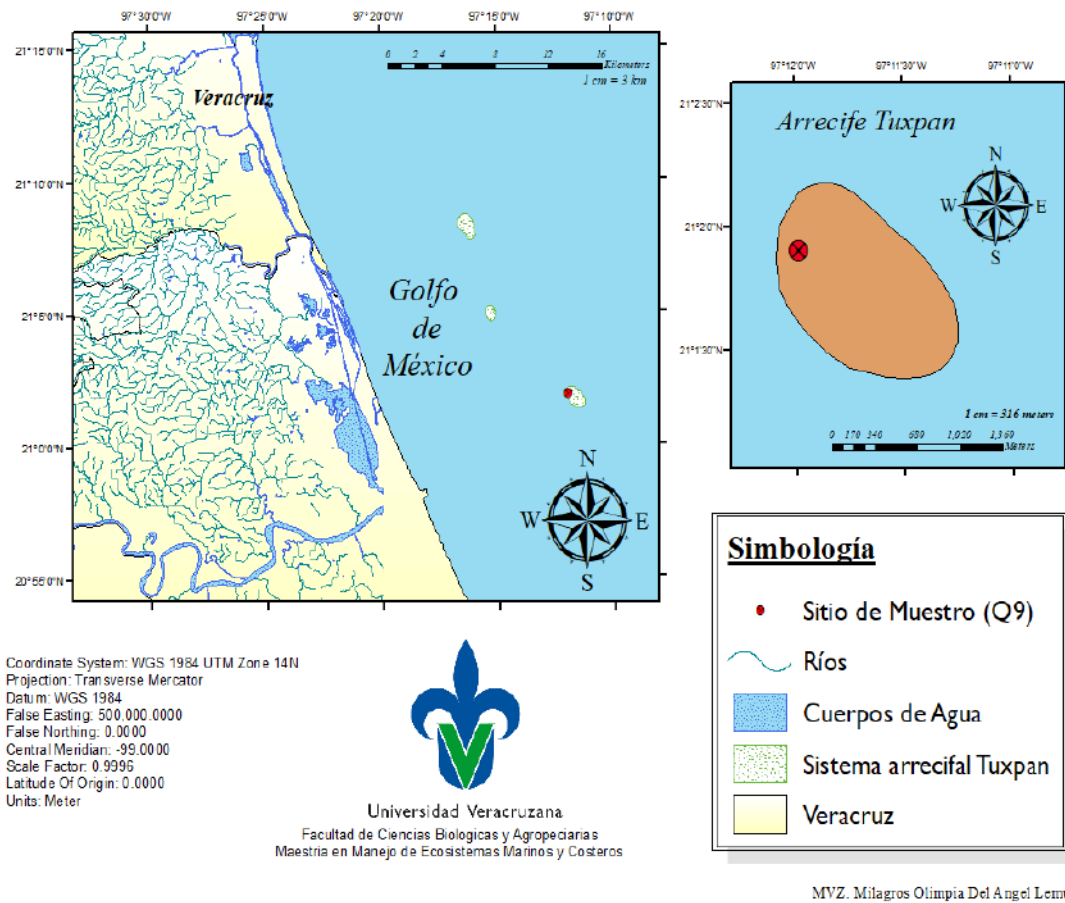


Figura 1. Parte Sur del Sistema arrecifal Lobos-Tuxpan. Sitio de muestreo marcado con círculo rojo.
 Realizado: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia

V. Materiales y métodos

5.1 Toma de las muestras

La colecta de muestras se llevó a cabo en el verano de 2018 con el uso de un cincel y martillo para remover cuidadosamente los nódulos o fragmentos de nódulos (dependiendo de su tamaño), en colonias de *Orbicella annularis* que presentaban o no el signo (Fotografía 1 A-D), lo anterior con base en la guía “Recolectando Corales para Histopatología. Guía Práctica” de Work y Rodríguez-Villalobos (2015)

Es necesario indicar que para un estudio histológico es necesario recolectar pedazos de coral con esqueleto. Debido a lo anterior y para minimizar el impacto al ecosistema, se colectaron un total de 15 muestras de diferentes colonias (3 sanas y 12 enfermas), las cuáles fueron transportadas en formol al 5% con agua de mar. Posteriormente, llegando al laboratorio se hizo un recambio a formol al 5% con agua destilada y se etiquetó cada bolsa indicando especie, un número de control y estado de salud (Work y Rodríguez-Villalobos 2015). Cabe comentar que solo se analizaron las muestras que presentaron características histológicas similares, siendo al final tres muestras de colonias con signo y tres sin signo (Tabla 4).



Fotografía 1 A) Realizando la selección de colonias. B) Fotografía de una parte del sitio “Q9”. C) Fotografía de nódulo de *Orbicella annularis* sin signo. D) Fotografía de nódulos con signo.

Tabla 4. Código y estado de salud de las muestras de *Orbicella annularis*, obtenidas en el Arrecife Tuxpan en el mes de junio del 2018

Número	Código de campo	Estado
1.-	SIC1ST	Sin SLO
	SIC1SL	Sin SLO
2.-	SIC2SL	Sin SLO
	SIC2ST	Sin SLO
3.-	SIC4SL	Sin SLO
	SIC4ST	Sin SLO
4.-	SIC1EL	Con SLO
	SIC1ET	Con SLO
5.-	SIC2EL	Con SLO
	SIC2ET	Con SLO
6.-	SIC4EL	Con SLO
	SIC4ET	Con SLO

Nota: Recolector: Biol. Gabriel García Ayala.

5.2 Proceso de laboratorio

5.2.1 Descalcificación

El objetivo de la descalcificación es eliminar las sales o iones de calcio (CaCO_3) que están presente en los tejidos mineralizados, de tal manera que la muestra pueda ser procesada y de fácil corte para las laminillas, para lo cual se utilizó ácido clorhídrico al 10%, llevando de uno a dos días en el proceso de eliminación (Espinosa-Neira, 2019).

5.2.2 Inclusión

En este paso se busca que la parafina se infiltre dentro de las células y tejidos para darles soporte y formar bloques con una buena resistencia para su corte. Para obtener esto, se pasa primero por un proceso de deshidratación, pasando por alcoholes desde 50% al 100% o absoluto, después es puesto en una sustancia intermedia que permitirá la transición, conocido también como líquido intermediario (xilol), para así culminar en el embebido de la parafina (Rodríguez-Villalobos, 2016)

5.2.3 Tinción en hematoxilina-eosina y montaje de las muestras.

Las laminillas pasaron por un proceso de rehidratación y tinción el cuál fue modificado y adaptado hasta obtener los resultados esperados con los tiempos correctos. La rehidratación se hizo pasando de xilol absoluto a metanol absoluto, después a metanol 90%, y 80% para finalizar en agua destilada. Mientras que para la técnica de hematoxilina-eosina (Humason 1967), se utilizó y modificó el protocolo propuesto por Rodríguez-Villalobos (2016) (Ilustración 5).

5.3 Descripción histopatológica y análisis de datos.

Tomando en cuenta la literatura disponible de las lesiones de los pólipos y las características propias del medio de tinción utilizado. Se dividió por regiones el cuerpo del pólipo para definir los caracteres correspondientes a cada región con el fin de sistematizar los cambios observados en los tejidos de los pólipos (Tabla 5 y Anexo 1). Dicho ejercicio fue necesario debido a la falta de una proyección anatomotopográfica de los pólipos, la cual permita ubicar de una forma estandarizada las lesiones existentes.

Con base en lo anterior, se propusieron cuatro regiones anatómicas: a) Región oral, ubicada en la parte superior del pólipo donde corresponde al tejido epitelial integumentario; b) Región media del pólipo, donde se encuentra el epitelio digestivo y se desarrolla el mesenterio; c) Región aboral, donde se ubica la calicodermis, formada por el epitelio exoesquelético y d) Región de la coenenquima, en la cual se ubica al canal gastrovascular (Tabla 5 y Anexo 2) (Berzins *et al.*, 2021; Galloway *et al.*, 2007).

Una vez que se determinaron las regiones anatomotopográficas, se procedió a separarlos por estructura y/o tejido (Tabla 5 e ilustración 3) y en cada región, se identificaron los caracteres morfológicos que presentaban las muestras con y sin signo. Posteriormente, se le asignó un nombre descriptivo a cada uno de ellos y con esta información, se generó una matriz (Anexo 2) a la cual se le realizaron tres pruebas estadísticas: 1) Análisis de conglomerados con índice de similitud Eucladiana, 2) Escalonamiento multidimensional no métrico (n-MDS) y 3) Porcentaje de Similitud (SIMPER). Los cuales permitieron desarrollar un análisis descriptivo de los caracteres en las muestras con y sin signo.

El ejercicio colegiado, se basó en las siguientes premisas:

1. Solo identificar los cambios morfológicos observables debido a la naturaleza de la tinción de hematoxilina y eosina.

2. Los caracteres usados se hicieron para sistematizar las características observadas en muestras con y sin SLO.
3. Las regiones anatomotopográficas y los caracteres propuestos son exclusivos de la especie *Orbicella annularis*.

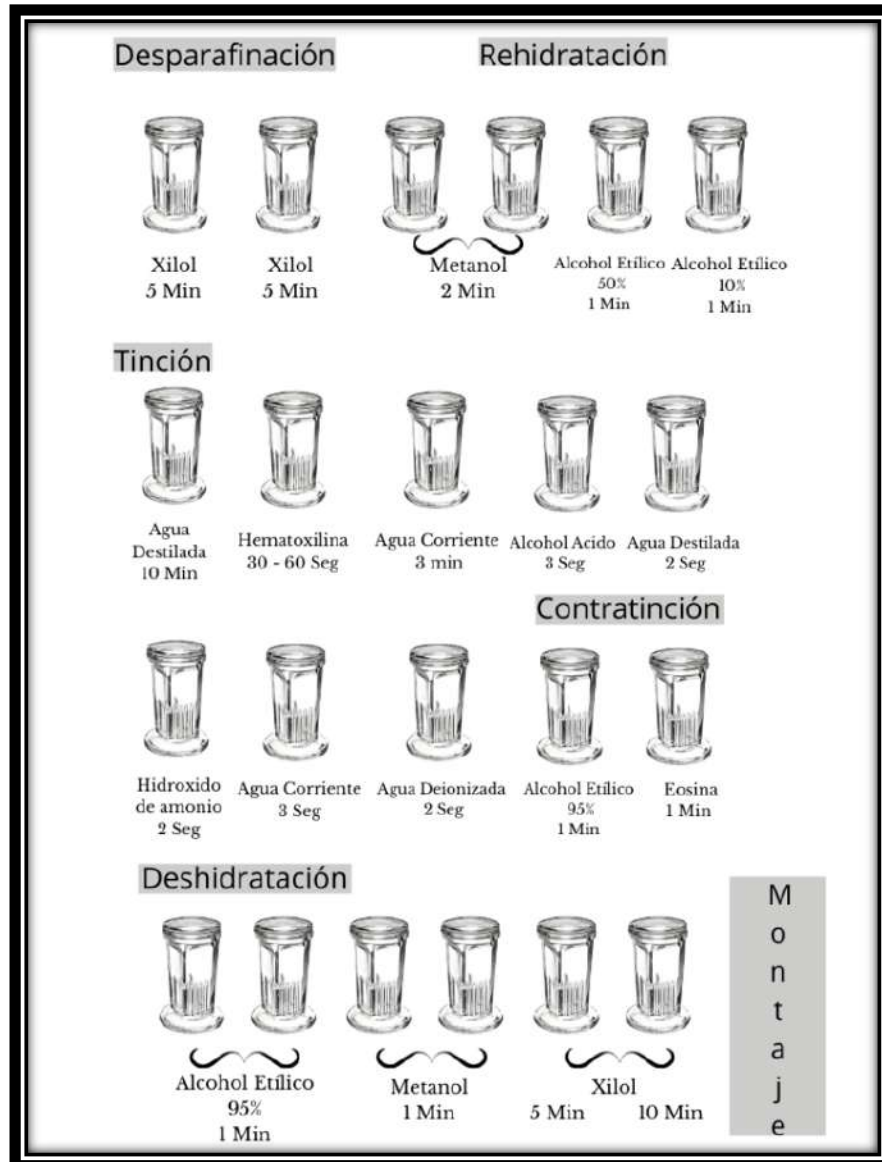


Ilustración 5. Tinción de Hematoxilina y Eosina. Tomada y adaptado de Rodríguez-Villalobos (2011), Estado de salud de colonias de *Pocillopora* en el Pacífico Mexicano, 140 Pág.

Tabla 5.-Caractéres morfológicos sistematizados del Síndrome de Lunares Oscuros en *Orbicella annularis*

1.- Región Oral	Carácter
1.1- Epitelio	Discontinuo (1)
	Continuo (2)
	Continuo/degradado (3)
	Discontinuo/degradado (4)
1.2.- Gastrodermis (zooxantelas)	Presencia (0)
	Ausencia (1)
1.3.-Posición de zooxantelas en Gastrodermis	Difuso (1)
	Arreglo lineal (2)
	Arreglo conglomerado (3)
1.4.- Gastrodermis (Estructura)	Lineal/continua (1)
	Convexo/continua (2)
	Lineal/discontinua (3)
	Convexo/discontinua (4)
1.5.- Estructuras intraepidérmicas no teñibles	Cerrado (0)
	Abierto (1)
2.- Región media	
2.1.- Cavidad gastrovascular	Sin arreglo celular (0)
	Arreglo celular (1)
2.2.- Gametos	Ausencia (0)
	Presencia (1)
2.3.- Forma de los gametos	No aplica (0)
	Asimétrico (1)
	Simétrica (2)
	Ambas (3)
2.4 .- Estructura animal no identificada	Ausencia (0)
	Presencia (1)
3.- Región aboral	
3.1.- Gastrodermis (Estructura)	Lineal continua (1)
	Convexo/continua (2)
	Lineal/discontinua (3)
	Convexo/discontinua (4)
3.2.-Mesoglea	Delgada (1)
	Ancha (2)
	Ausente (3)
3.3.- Calicodermis (Estructura)	Lineal/continuo (1)
	Lineal/discontinuo (2)
	Desprendido/continuo (3)
	Desprendido/discontinuo (4)
3.4.- Materia celular disperso	Ausencia (0)
	Presencia (1)
3.5.- Alteraciones celulares adyacentes a la calicodermis	Ausencia (0)
	Presencia (1)

4.-Región de la coenenquima	
4.1.- Estructura de Pared superficial	Continua (1)
	Discontinua (2)
4.2.- Pared superficial del cuerpo	Delgado (1)
	Gruoso (2)
4.3.- Grosor de Pared basal del cuerpo	Delgado (1)
	Gruoso (2)
4.4.- Estructura de Pared basal del cuerpo	Continuo (1)
	Discontinuo (2)
4.5.- Posición de zooxantelas en Gastrodermis	Difuso (1)
	Arreglo lineal (2)
	Arreglo conglomerado (3)
4.6.- Estructura de la Gastrodermis	Lineal/continua (1)
	Convexo/continua (2)
	Lineal/discontinua (3)
	Convexo/discontinua (4)
4.7.- Estructuras intraepidérmicas no teñibles	Cerrado (0)
	Abierto (1)
4.8.- Estructura de la Calicodermis	Lineal/continua (1)
	Lineal/discontinua (2)
	Desprendido/continua (3)
	Desprendido/discontinua (4)

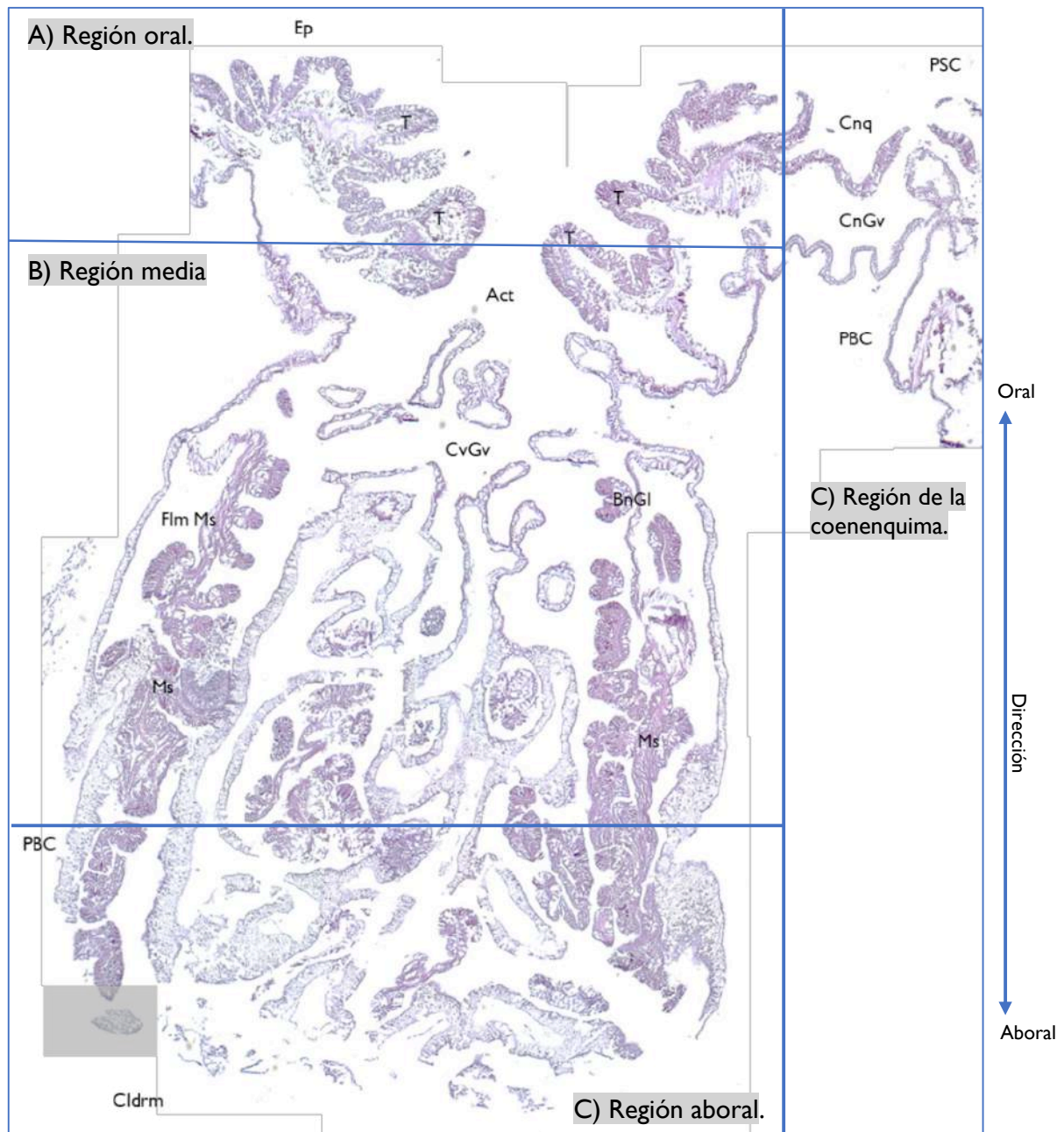
VI. Resultados

6.1 Características anatómicas de *Orbicella annularis*

Orbicella annularis desde un corte longitudinal (4x) se puede describir como una estructura cilíndrica, dónde las partes que se pueden identificar (en dirección oral-aboral) son la epidermis (Ep), los tentáculos (T), la cavidad oral o boca seguida de la actinofaringe (Act); en esa misma altura se localiza la coenenquima y debajo de ella se localiza el canal gastrovascular (CnGv). Dentro del pólipo, se encuentra la cavidad gastrovascular (CvGv) donde se ubica el mesenterio (Ms) constituido por filamentos mesentéricos (FlmMs) y bandas cnidoglandulares (BnGI), donde se pueden encontrar los oovocitos (Oov) y sacos espermarios. Para finalizar en la parte aboral del cuerpo del pólipo, se localiza la calicodermis (Cldrm), que es parte basal de cuerpo, conectándolo con el exoesqueleto (fotografía 2).

En un corte transversal (4x) se aprecia como una forma de flor, dónde se encuentra en la parte interna del cuerpo el mesenterio (Ms) junto con algunas bandas cnidoglandulares (BnGI) y las estructuras de los gametos (Oov). En la zona del centro del corte se observa la *columnela* (Clm) que le da soporte a la parte central del pólipo. Finalmente, en la parte externa, en la pared basal del cuerpo (PBC), se presentan los *septum* primario y secundario, delimitados por la calicodermis (Cldrm) (fotografía 3).

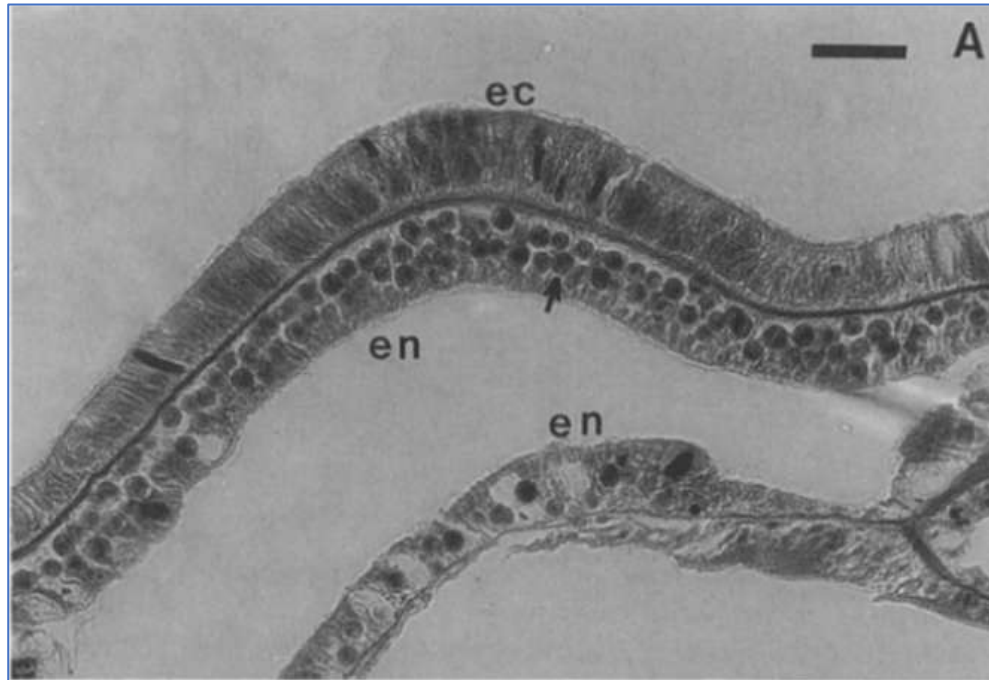
En el corte transversal (40x) de la coenenquima del pólipo, se observan las dos capas; a) pared superficial (PSC) y b) pared basal del cuerpo (PBC). En la pared superficial se encuentra la epidermis (Ep), mesoglea y gastrodermis (Gdm), mientras que la pared basal se compone de gastrodermis (Gdm), mesoglea y calicodermis (Cldrm), divididas por un espacio llamado canal gastrovascular (CnGv), el cual permite la comunicación entre los pólipos (fotografía 4).



Fotografía 2. Corte Longitudinal de *Orbicella annularis* (4x). A) Región oral. (Ep) Epidermis, (T) Tentáculos y (PSC) Pared superficial del cuerpo; B) Región media, (Act) Actinofaringe, (CvGv) Cavidad Gastrovascular, (FlmMs) Filamento Mesenterico, (BnGl) Banda Cnidoglandular y (Ms) Mesenterio; C) Región aboral, (Cldrm) Calicodermis y (PBC) Pared basal del cuerpo; D) Región de la coenenchima, (Cnq) Coenenchima, (CnGv) Canal Gastrovascular, (PSC) Pared superficial del cuerpo y (PBC) Pared basal del cuerpo Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.



Fotografía 3. Corte transversal *Orbicella annularis* 4x. (SpP) Septum primario, (SpS) Septum secundario, (Oov) Ovocitos, (Ms) Mesenterio, (Clm) Columnela, (BnCn) Banda cnidoglandular, (Cldm) Calicodermis. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.



Fotografía 4 (A y B). Corte Longitudinal *Orbicella annularis* a una escala de 30 μm . A) Coenénquima de un espécimen sin signo del arrecife (Carysfort, 1990); muestra una alta densidad de zooxantelas en la capa endodérmica. B) Coenénquima de un espécimen sin signo del arrecife Tuxpan, 2018. A.- (Ec) Ectodermo, (En) Endodermo. B.- (PSC) Pared superficial del cuerpo, (Ep) Epidermis, (CnGv) Canal Gastrovascular, (Gdm) Gastrodermis, (Cldm) Calicodermis, (PBC) Pared basal del cuerpo y (\uparrow) Zooxantelas. A) Tomada y modificada de Szman y Gassman, 1990. *The effects of prolonged "bleaching" on the tissue biomass and reproduction of the reef coral Montastrea annularis*. Pag. 220; B) Tomada por Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

6.2 Análisis de datos

Se realizó un escalamiento multidimensional no métrico (nMDS), al tener pocos datos, se generaron 6 datos más con las mismas características con los valores al azar para comparar con los datos reales, obteniendo como primer resultado que los datos aleatorios se mezclan entre sí, mientras que los datos reales se mantienen separados (Figura 2). Por lo que se realizó este análisis con 50 datos aleatorios, donde en ocasiones una muestra de los datos reales se encontraba cerca o dentro del grupo de las sanas, pero separando en dos grupos alejando las muestras con signo de los datos aleatorios (Figura 3 A-E). El nMDS obtuvo un valor de estrés de 0.05 (indicando que la ordenación es excelente) y donde mostró, que las muestras sin signo a pesar distribuirse de manera dispersa, forman un grupo separado de las muestras con signo (Figura 4). Posteriormente, se realizó una prueba de SIMPER para identificar los caracteres que separan las muestras con y sin signo, obteniendo como resultado que los caracteres que contribuyen en mayor parte a esta diferencia son: 1.4 (16.54%), 2.3 (15.75%), 4.8 (9.84%), 3.1 (7.87%), 3.3 (7.87%), 1.1 (7.48%), 1.3 (7.08%) y 4.6 (7.08%), respectivamente (Tabla 6).

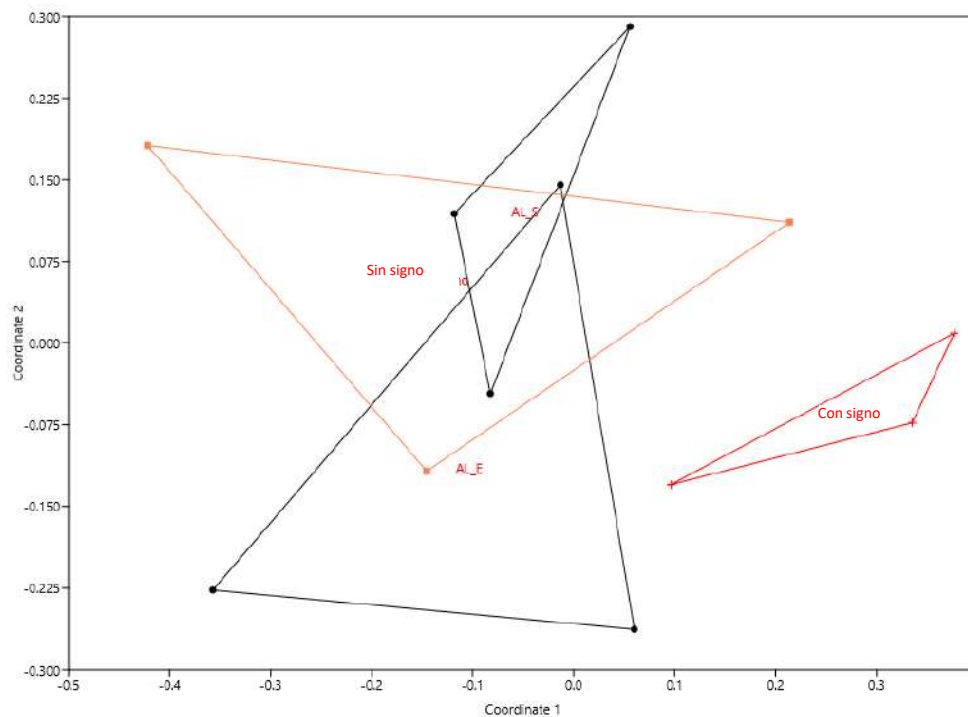


Figura 2. Escalamiento multidimensional no métrico (n-MDS). Se muestra diferencia con los datos aleatorios (AL_E; AL_S) en comparación con los datos observados (Sin signo; Con signo) en el espacio 2D.

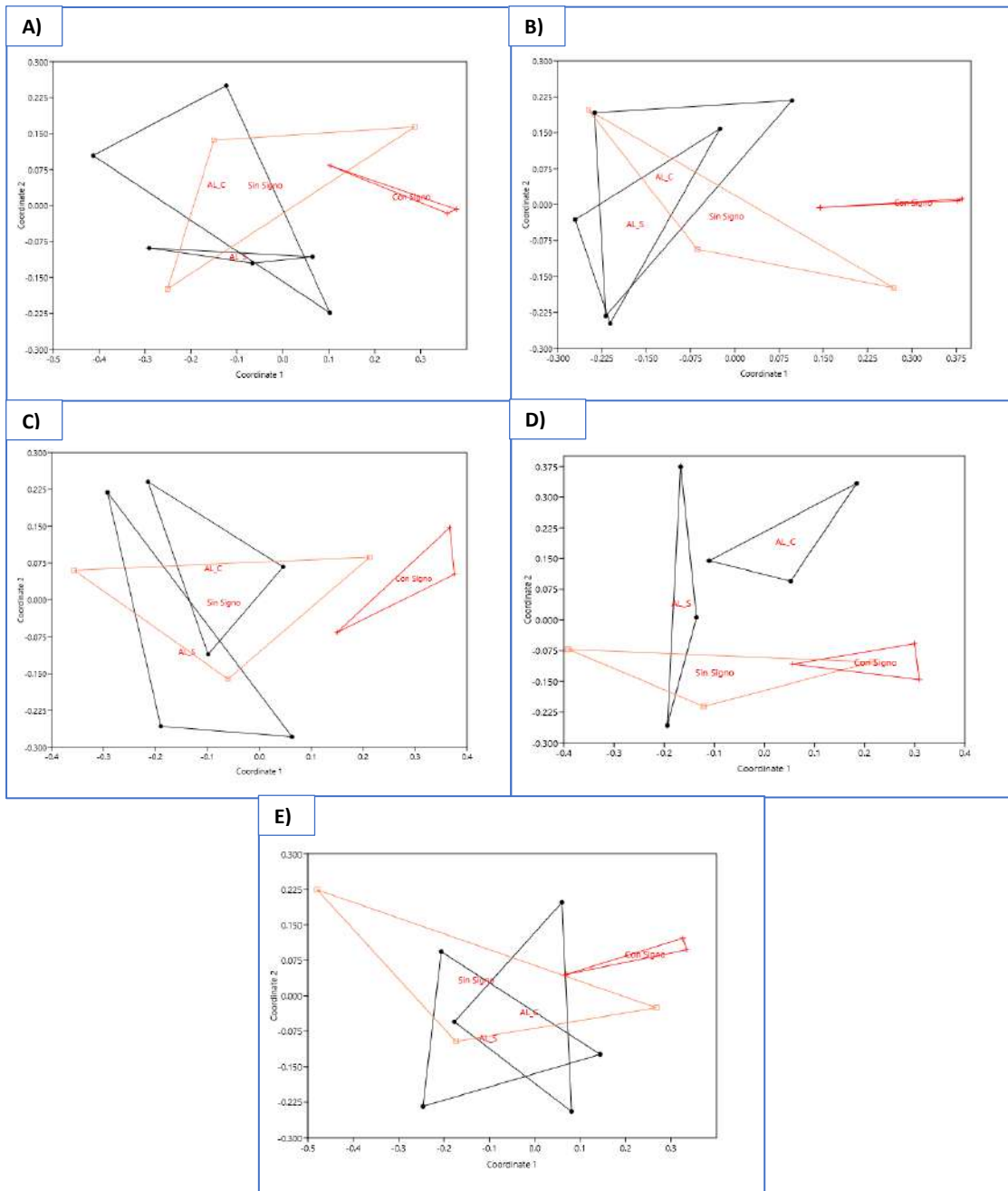


Figura 3 (A-E). Los análisis A y D muestran como una de las muestras con presencia de signo se acerca mas o es mas parecida a las muestras sin signo. Los análisis B y E se observa como una de las muestras del grupo con signo se acerca al grupo sin signo. Los análisis de la A al E el grupo con signo no se entre mezcal con los grupos creados de los datos aleatorios (AL_C; AL_E)

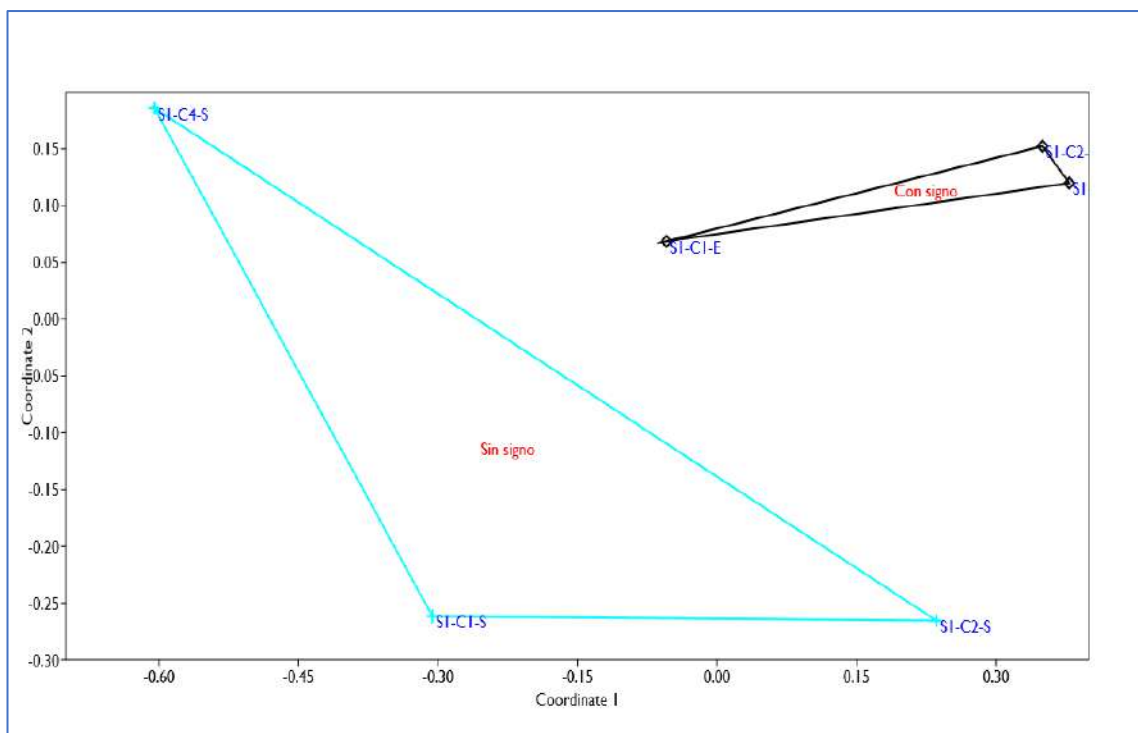


Figura 4. Escalamiento multidimensional no métrico (n-MDS). Se muestra diferencia entre ambos grupos en el espacio 2D, mostrando más agrupados las muestras con signo en comparación con las muestras sin signo.

Tabla 6.- Porcentaje de similitud (SIMPER), de los principales caracteres que contribuyen con la disimilitud entre las muestras con y sin signo de lunares oscuros.

Carácter	Contribución %	Media sin signo	Media con signo
1.4.- Gastrodermis (Estructura)	16.54	2	3.33
2.3.- Forma de los gametos	15.75	2.33	0.333
4.8.- Calicodermis (Estructura)	9.843	2.33	1.33
3.1.- Gastrodermis (Estructura)	7.874	2.33	3.67
3.3.- Calicodermis (Estructura)	7.874	2.33	1.67
1.1.- Epitelio	7.48	2.67	3.67
1.3.-Posición de las zooxantelas en Gastrodermis	7.087	2.33	1
4.6.- Gastrodermis (Estructura)	7.087	2.33	3

6.3 Descripción histológica con y sin SLO

1. Región oral.

Se observan que el epitelio de las muestras sin signo tiene una estructura continua, mientras que en las muestras con signo presentan una estructura discontinua/degradada (fotografía 5 A-B). El epitelio conformado por la epidermis, la mesoglea y la gastrodermis (dirección oral-aboral), es diferente entre las muestras sin y con signo. Las muestras enfermas poseen en la gastrodermis con estructura convexo/discontinua y una distribución de zooxantelas dispersas, sin un orden en específico, mientras que la gastrodermis de las muestras sin signo tiene mayormente una estructura lineal/continua con un arreglo lineal de las zooxantelas (fotografía 6 A-C).

2. Región Media

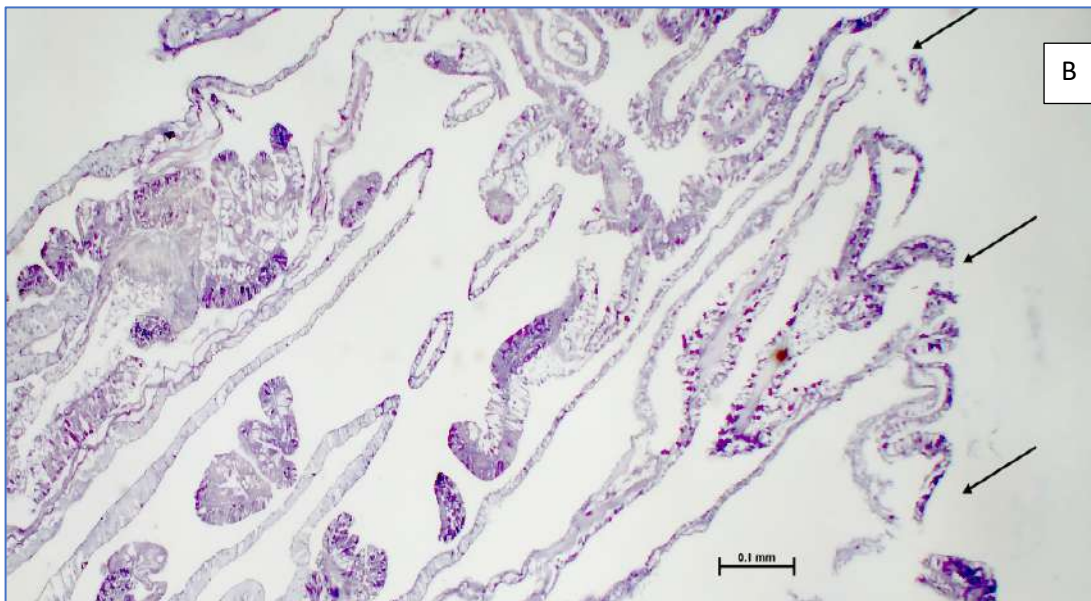
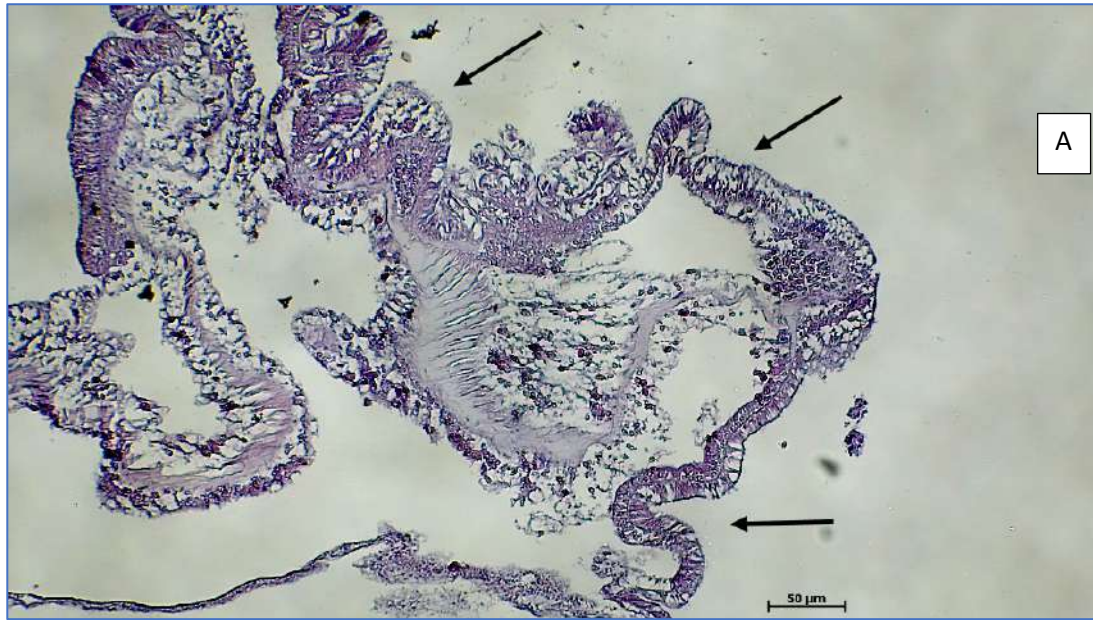
La forma de los gametos fue asimétrica y su presencia fue menor en las muestras con signo (fotografía 7).

3. Región aboral

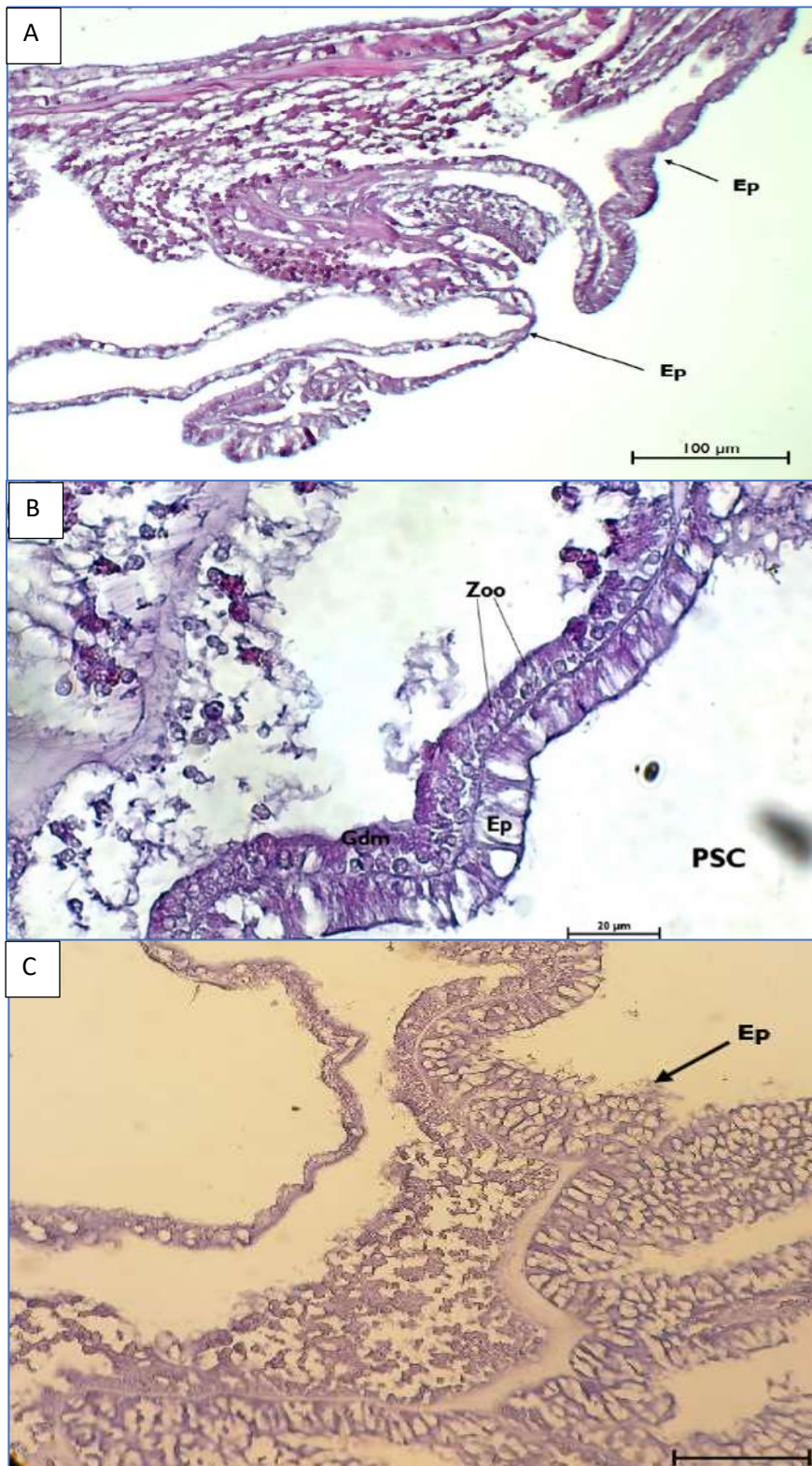
Mostró diferencias entre las muestras sin y con signo. La calicodermis de las muestras sin signo presentaron una estructura lineal/continuo. Mientras que la gastrodermis de las muestras con signo, presentaban frecuentemente una estructura convexa/discontinua y las muestras sin signo presentan el carácter convexo/continuo (fotografía 8).

4. Región de la Coenenquima

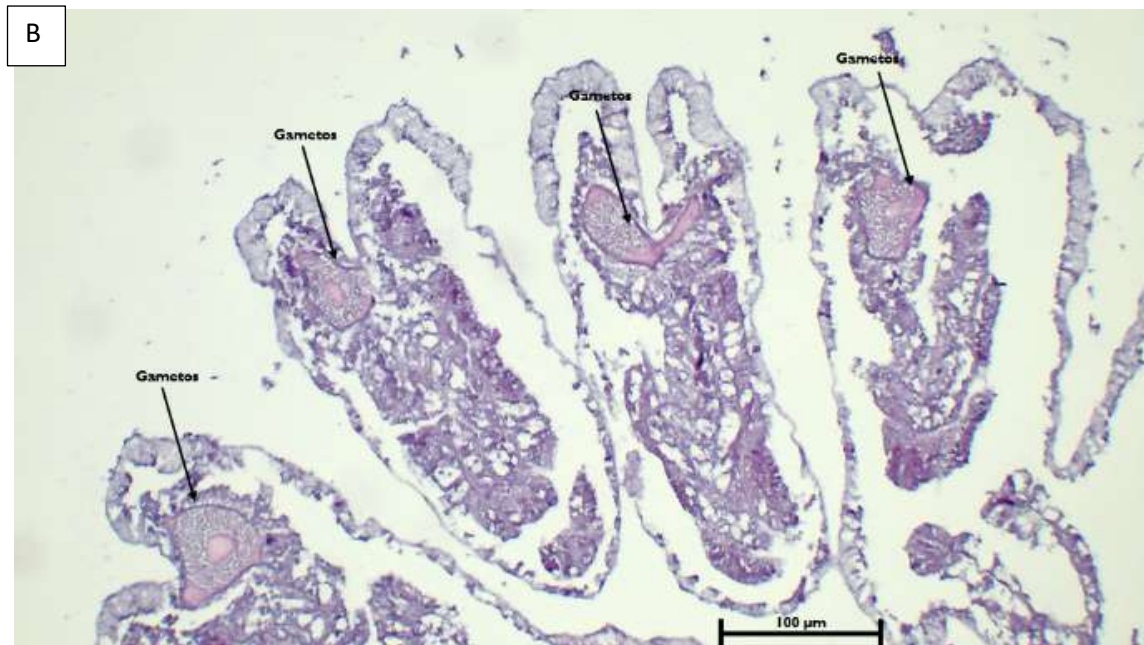
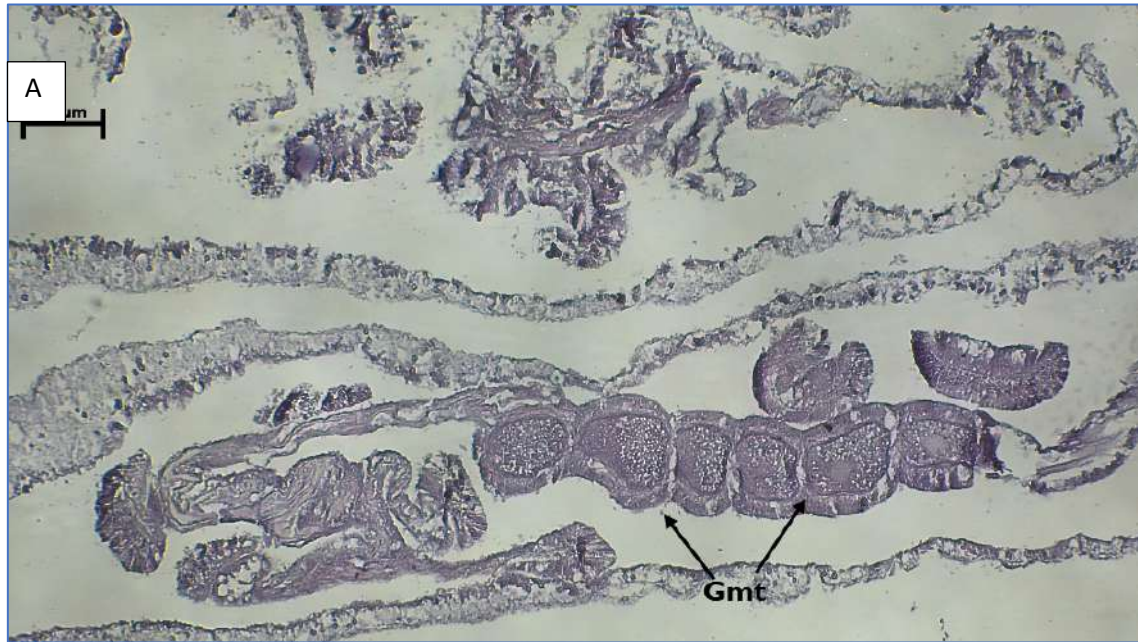
La calicodermis de las muestras con signo presentaron una estructura lineal tanto continua como discontinua, mientras que las muestras sin signo presentaban diferentes caracteres morfológicos que no se repetían. A su vez la gastrodermis de la coenenquima (pared basal y pared superficial del cuerpo) de las muestras con signo presentaron una discontinuidad, conocida también como una ruptura del tejido, mientras que la gastrodermis presente en muestras sin signo tenían una estructura lineal, presentándose discontinua como continua (fotografía 9).



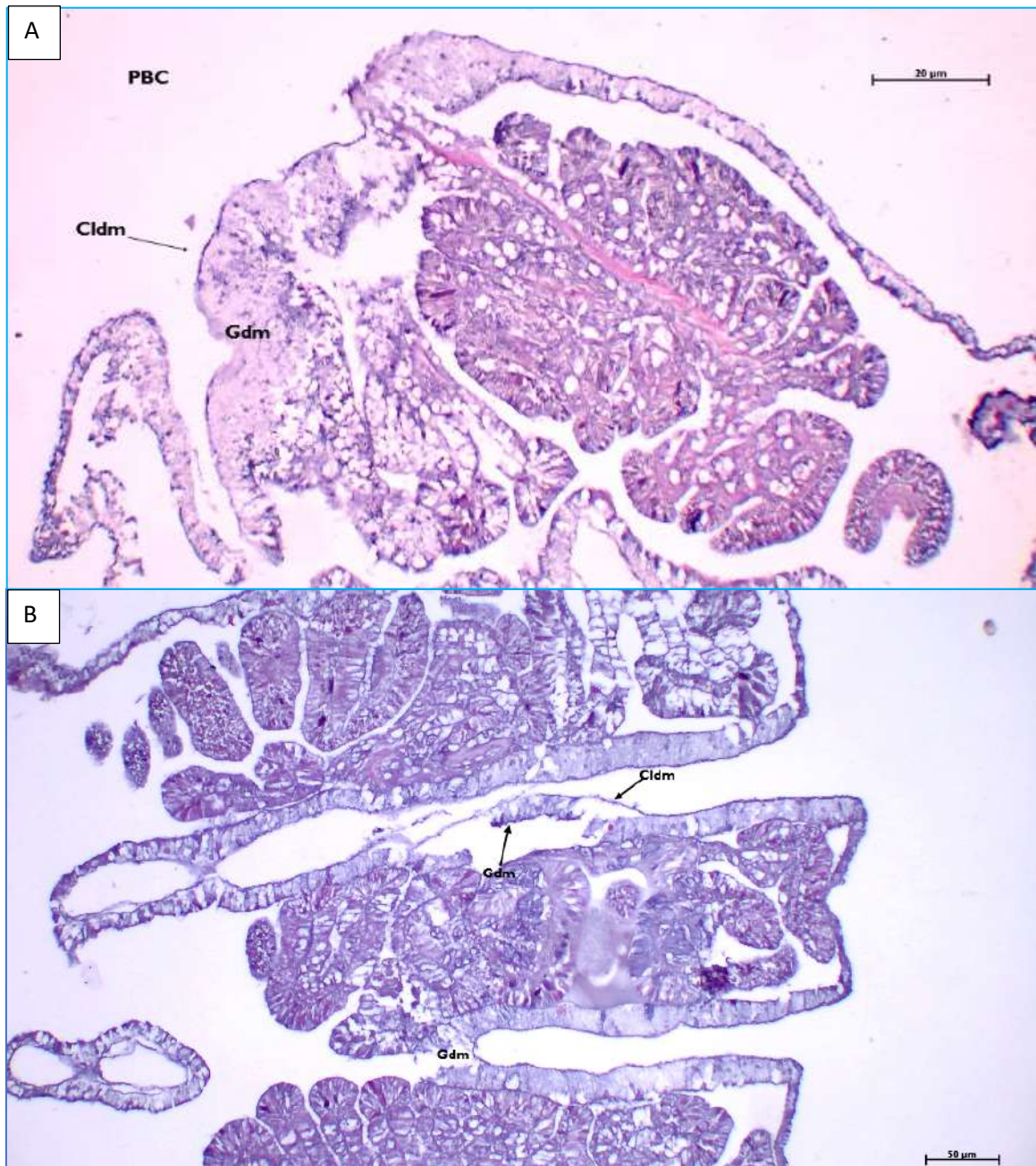
Fotografía 5. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) sin signo (†) Epitelio continuo. B) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (4x) con signo (†) Epitelio discontinuo/degradado. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.



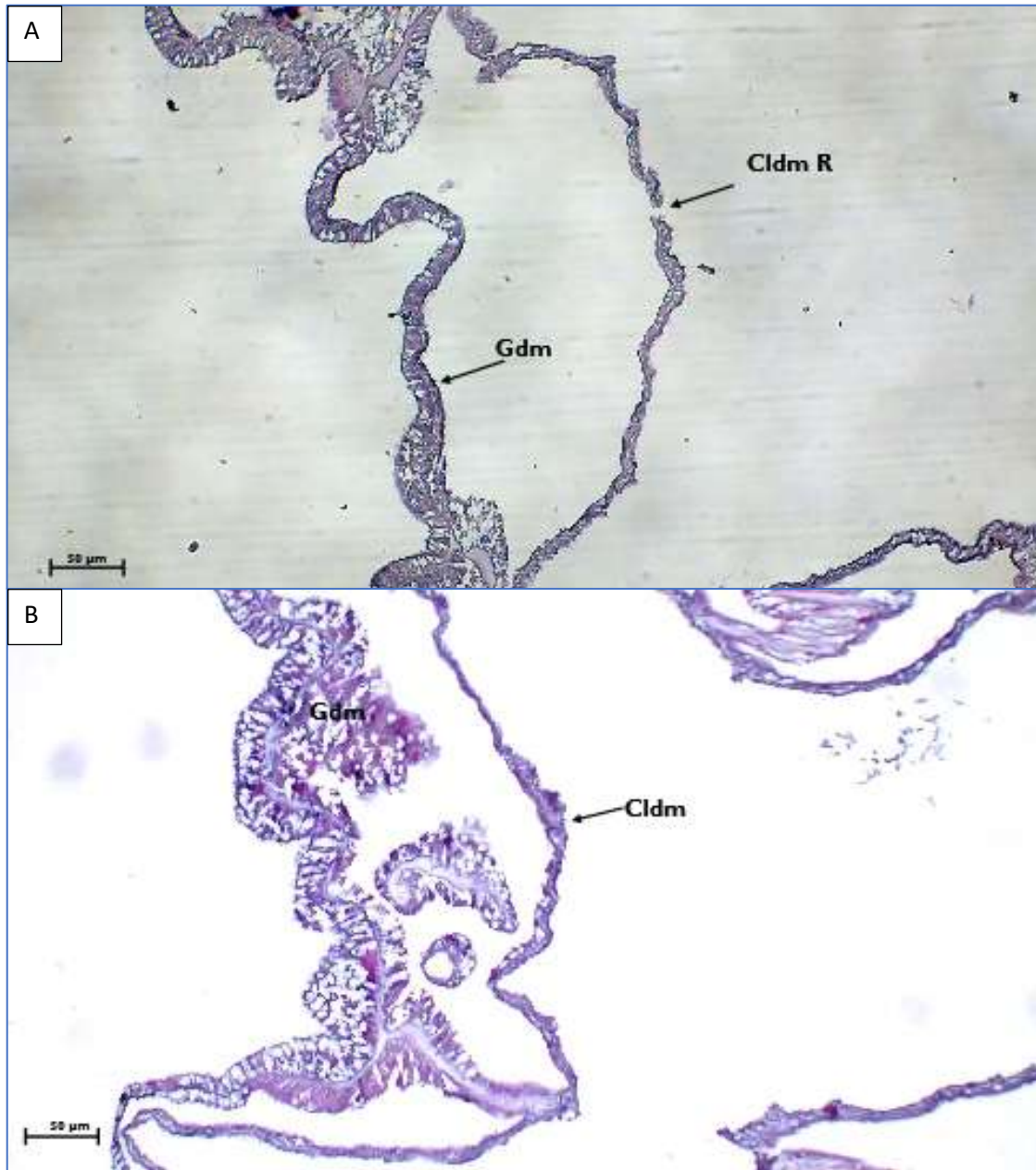
Fotografía 6. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra sin signo (↑) Gastrodermis de la pared superficial del cuerpo, (dirección oral) con una estructura lineal/continua. **B)** Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (40x) de muestra sin signo (Zoo) Zooxantelas, (Gdm) Gastrodermis, (Ep) Epidermis y (PSC) Pared superficial del cuerpo. **C)** Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (40x) de muestra con signo (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/discontinua. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia



Fotografía 7. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (40x) de muestra sin signo, (Gmt) Gametos simétricos. B) Corte transversal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra con signo con Gametos asimétricos Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia



Fotografía 8. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra sin signo, (Cldm) Calicodermis con estructura lineal/continua y (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/continuo. B) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (4x) de muestra con signo (Cldm) Calicodermis con estructura Lineal/continua y (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/discontinua. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.



Fotografía 9. A) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra sin signo, (Gdm) Gastrodermis con estructura lineal/continua y (Cldm R) Calicodermis con ruptura denominado con el carácter lineal/discontinuo. B) Corte longitudinal de *Orbicella annularis* (10x) de muestra con signo (Gdm) Gastrodermis con estructura convexa/continua y (Cldm) Calicodermis lineal/continuo. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

VII. Discusión

Con el paso del tiempo, el estudio histopatológico en los corales ha creado herramientas y guías que facilitan el análisis descriptivo y colecta de las muestras (Work y Aeby 2006; Galloway *et al.* 2007; Aeby *et al.* 2017). No obstante, los trabajos y estudios que se han efectuado sobre la descripción histopatológica de los síndromes y las enfermedades en los corales presentan descripciones diferentes entre sí, siendo algunas más detalladas (Renegar *et al.* 2008), en comparación a otros trabajos del mismo signo (Cervino *et al.* 2001) lo que dificulta su sistematización.

Por lo que el primero de los objetivos del trabajo fue la realización de una descripción anatómica normal correspondiente a *Orbicella annularis*, en este caso con la tinción de hematoxilina y eosina, la cual permite una descripción detallada con imágenes descriptivas, este primer objetivo, aportando una imagen de referencia, de la cual no se tenía, permitiendo desarrollar el objetivos dos, los análisis comparativos, los cuales permitieron que se clasificando los cambios morfológicos involucrados con el SLO, realizando análisis más precisos de las regiones donde se generen las lesiones. Debido a lo antes mencionado y teniendo en cuenta las limitaciones que proporciona la técnica de Hematoxilina y Eosina, se desarrolló una herramienta que permite realizar un análisis cualitativo y cuantitativo, de las lesiones observadas por región anatómica de pólipos de *O. annularis* con y sin SLO.

Con el uso de la herramienta comentada con anterioridad, se desarrolló una matriz de datos disponible en el anexo 2, como resultado de la asignación de los nombres de los caracteres y la interpretación dichos datos. Además, los análisis estadísticos permitieron alcanzar el objetivo tres, que fue la comparación fotográfica que permite ver diferencias histológicas entre las muestras con y sin signo, obteniendo como resultado extra un “Catálogo histológico” disponible en el anexo 1 de este documento, donde se observan en fotografías la forma de los caracteres asignados.

Dicha matriz de datos permitió hacer análisis estadísticos multivariados usando variables dummy de los caracteres morfológicos, siendo uno de los primeros estudios en su tipo realizados en el SLO. Aunque debido al bajo tamaño de muestras los resultados son exploratorios, estos nos permiten generar hipótesis respecto a los daños esperado en colonias con el SLO. Para la realización de los análisis estadísticos, se procedió hacer un análisis de conglomerados, el cual formó un primer grupo dónde tenían una alta similitud entre dos muestras con signo (figura 2). Formando después un segundo grupo dónde compartían

similitud con una muestra sin signo, por lo que no quedaba claro la separación de los grupos. Sin embargo, un análisis de escalonamiento multidimensional no métrico (nMDS) mostró una separación clara de las muestras con signo de las que no lo tenían. Además, el nMDS también mostro que las muestras sin el signo tenían mayor variabilidad lo que causa que en el análisis de conglomerados las mezcle entre grupos (figura 3).

Cabe comentar que, aunque algunas características consideradas en las descripciones que podrían pensarse como “artefactos” en las muestras, pero el análisis nMDS, los logra separar de manera evidente a las muestras en dos los grupos (sin y con signo) en el espacio bidimensional con un valor de estrés muy bajo. Para finalizar el análisis estadístico, se realizó un estudio sobre el porcentaje de similitud (SIMPER), el cual muestra cuáles son los caracteres que contribuyen a la separación de los grupos, permitiendo la elaboración descriptiva de los cambios morfológicos en cada región anatómica (tabla.6)

La primera región en ser analizada fue la región oral, donde las muestras con signo poseían un epitelio discontinuo y degradado, lo que podría explicarse como una ruptura de este. Después sigue la gastrodermis, descrita como tejido convexo-discontinuo con una distribución difusa de las zooxantelas, lo que otros autores mencionarían como la degradación celular de la epidermis (fotografía 5 A-B y 6 A-C) (Renegar *et al.*, 2007).

En la región media del pólipo, la literatura no menciona algún cambio morfológico de los gametos o la pérdida de ellos a causa del signo, pero en los análisis efectuados en muestras con signo, se describió que la presencia de los gametos era menor y que estos eran asimétricos o de forma estrellada, ya que al ser tomadas las muestras antes del desove de los corales, se pudo observar evidencia de que el desarrollo del signo en los pólipos también afecta en la reproducción de los gametos (fotografía 7).

En las regiones aboral y de la coenenquima, presentaron caracteres como convexo-discontinuo y continuo en la gastrodermis, así como el desprendimiento de la calicodermis. Dichos caracteres descritos en este estudio podrían relacionarse con las alteraciones celulares que menciona Weil (2004) y Renegar *et al.*, (2007), pudiendo ser la degradación celular, necrosis y la disrupción de los orgánulos internos proximales a la pared basal del cuerpo que ellos describen (fotografía 8 A-B y 9 A-B).

Durante el desarrollo de los objetivos, se detectaron limitaciones para el estudio histológico del SLO en *Orbicella annularis* debido a la escasa información encontrada en la literatura, ya que existen pocos artículos que se enfocan en la descripción histológica de esta especie.

De la misma manera, se carecen de fotografías histológicas de colonias sanas y colonias con el SLO, haciendo que los avances sean limitados aunque la literatura si proporcionan información de cómo se observaron los cambios morfológicos, sin estas fotografías descriptivas de lo que se reporta, puede llegar a ocasionar una confusión y que se desarrollen descripciones muy generales aseverando que los cambios mostrados corresponden al signo, evento que podría ser cierto, pero no hay una base que sistematice las descripciones que se reportan.

Un ejemplo es el caso de Cervino *et al.* (2001) donde se menciona que las zooxantelas presentan pigmentos oscuros y agrandados, siendo una descripción muy general del SLO, dicha característica no se vuelve a mencionar en otros artículos, además no se encuentran disponibles fotografías que respalden esta información.

Por otra parte, el trabajo de Renegar *et al.*, (2008) podría considerarse el más completo en la descripción histopatología del SLO, con la utilización de herramientas más especializadas como son los microscopios electrónicos de barrido y de transmisión. Pero se repite la misma problemática, que carece de fotografías que apoyen la información del trabajo, lo que hace que se vuelva complicada la descripción de dichas alteraciones y no permita la sistematización de las lesiones en SLO

También se identificó en la literatura, que mucho de los enfoques que se han realizado para el estudio de este síndrome, se dirigen principalmente a la identificación de un posible agente causal. Dejando, por un lado, los procesos fisiopatológicos que se deben desarrollar “antes” de que se manifiesten los daños tisulares que caracterizan al SLO (Work y Meteyer, 2014). Adicionalmente, en la literatura no existe un consenso general de ¿Cuál? o ¿Cuáles? son los agentes causales del SLO (Gil-Agudelo *et al.*, 2007; Sweet *et al.*, 2013; Randall *et al.*, 2016).

El uso de la técnica de Hematoxilina y Eosina es la tinción básica para elaborar estudios descriptivos de los tejidos en los corales y permite identificar estructuras morfológicas de un pólipo de manera clara. Sin embargo, se limita a una descripción morfológica, porque no permite identificar las estructuras y/o procesos desarrollados por diversos microorganismos (hongos, bacterias y virus). En estos casos es necesario recurrir a otros métodos de tinción como Grocott, Gram, Inmunofluorescencia, Azul de Algodón de Lactofenol, entre otros, los cuales mejorarán los estudios histopatológicos en los corales (Greene *et al.*, 2020).

Como ejemplo de lo anterior se puede mencionar el caso de Kellogg *et al* (2014) dónde en su estudio intentaron identificar *R. acernium*, como lo hicieron Sweet *et al*, en el 2013, pero no obtuvieron los resultados esperados. Considerando que uno de los factores importantes relacionado con la manifestación del signo es el entorno en el que se encuentra los arrecifes (Randall *et al.*, 2016; García-Benítez, 2018). Lo que implicaría la realización de estudios con un enfoque integral para determinar él o los factores que pueden generar las condiciones ideales para que se desarrolle el SLO y no solo enfocarse en la búsqueda de un agente causal, el cual en algunos casos puede ser un microorganismo oportunista y/o abundante en el entorno (virus, bacteria u hongo), que se desarrolle cuando el pólipo pierda su homeostasis.

En el caso del arrecife Tuxpan podría considerarse que uno de los factores que contribuyen en la manifestación del signo del SLO, son las descargas de aguas negras y sedimentos procedentes del río Tuxpan, volviéndose un factor de estrés constante en la salud coralina (INEGI, 2016; SEMARNAT; CONANP, 2014).

VIII. Conclusiones

- Los análisis estadísticos dividieron a las muestras que poseían signo de los que no lo presentaban, siendo las características que más contribuyeron a esta separación los cambios estructurales en la gastrodermis tanto de la pared superficial del cuerpo de la región oral hasta la coenenquima y la gastrodermis de la pared basal del cuerpo ubicado en la coenenquima.
- Las muestras que presentaban signo presentaron diferencias morfológicas en los gametos, lo que existe la hipótesis de que afecte también en la reproducción de los corales.
- Efectuar los análisis estadísticos permite generar hipótesis respecto a los daños esperados en las colonias con el SLO, permitiendo crear detalladas descripciones comparativas entre las muestras.
- Se desarrolló una propuesta anatomotopográfica para la comparación entre muestras más detallada, además de proporcionar una catalogo fotográfico que facilita la comparación de las diferentes formas morfológicas que se pueden encontrar en *O. annularis* con y sin el SLO.
- Las muestras en parafina que tienen tiempo de ser almacenadas tardan más en ser teñidas por la técnica Hematoxilina y Eosina, por lo que la estandarización del método se vuelve más compleja, llegando a no ser satisfactoria la tinción en comparación con las muestras más frescas.
- Existe una diferencia entre las características de las muestras con el signo y sin el signo de SLO, por lo que es necesario aumentar el número de muestras, para tener una descripción precisa de los cambios morfológicos y empezar a designarle descripción histopatológica concreta.

- Se requieren hacer estudios inmunológicos, histopatológicos, bacteriológicos y PCR siguiendo la cronosecuencia de la presentación de SLO en los pólipos. Lo anterior, para determinar las diferentes etapas del SLO e ir identificando los diversos cambios desarrollados durante su desarrollo.
- Debido a la complejidad del tema, es necesario la integración de otras áreas académicas que contribuyan a la comprensión de las condiciones en las cuales se desarrollan las patologías en los corales, así como en el desarrollo y mejoramiento de nuevos métodos diagnósticos.
- Continuar los estudios en el SLO, para proporcionar datos más actualizados, permitiendo una continuidad en la comprensión de los estudios en este síndrome

IX. Aplicación práctica

- La herramienta que se obtuvo como resultado de este trabajo, es un primer esfuerzo para ayudar a la estandarización de los cambios morfológicos en las enfermedades de los corales.
- Podrá usarse como complemento en los procesos de monitoreos dentro de los arrecifes, dando seguimiento a los estudios del SLO y otras enfermedades.
- El “Catálogo” de imágenes histológicas desarrollado, será un apoyo para los nuevos estudios que deseen precisar los caracteres existentes en el SLO y otras enfermedades.
- Permitirá que un enfoque clínico veterinario aporte una perspectiva diferente, para el desarrollo de métodos y técnicas relacionados con el estudio de las enfermedades de corales.

X. Referencias

- Ainsworth, T. D., Fine, M., Roff, G. y Hoegh-Guldberg, O. (2008). Bacteria are not the primary cause of bleaching in the Mediterranean coral *Oculina patagonica*. *The ISME journal*, 2(1), 67–73.
- Apdillah, D., Pratomo, A., Azizah, D., Nugraha, A. H. y Febrianto, T. (2020). Potency, status and carrying capacity of coral reef ecosystem for sustainable marine ecotourism development; a case study of small islands in Kepulauan Riau-Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 584(1), 1–12.
- Begon, M., Harper, J. L., y Townsend, C. R. (2016). ¿Qué es un individuo? Organismos unitarios y modulares. En *Ecology: from individuals to ecosystems*, 12–127. Omega, S.A.
- Berzins, I. K., Yanong, R. P. E., LaDouceur, E. E. y Peters, E. C. (2021). Cnidaria. En E. E. B. LaDouceur (Ed.), *Invertebrate Histology* (Illustrate), 55–86. John Wiley & Sons.
- Bourne, D. G. (2005). Microbiological assessment of a disease outbreak on corals from Magnetic Island (Great Barrier Reef, Australia). *Coral Reefs*, 24(2), 304–312.
- Bruckner, A. W. (2016). History of coral disease research. *Diseases of Coral*, 1st ed.; Woodley, CM, Downs, CA, Bruckner, AW, Porter, JW, Galloway, S.B., Eds, 52–84.
- Budd, A. F., Fukami, H., Smith, N. D. y Knowlton, N. (2012). Taxonomic classification of the reef coral family Mussidae (Cnidaria: Anthozoa: Scleractinia). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166(3), 465–529.
- Carricart-Ganivet, J. P., Beltrán-Torres, A. U. y Horta-Puga, G. (2011). Distribution and prevalence of coral diseases in the Veracruz Reef System, Southern Gulf of Mexico. *Diseases of aquatic organisms*, 95(3), 181–187.
- Cederstam, A., Lawrence, J. y Quintanilla, V. (2015). *La Protección de los Arrecifes de Coral en México. Rescatando la Biodiversidad Marina y sus Beneficios para la Humanidad. IV Amenazas de los arrecifes de coral*. AIDA. México, DF: Asociación Interamericana para la Defensa del ambiente.
- Cervino, J., Goreau, T. J., Nagelkerken, I., Smith, G. W. y Hayes, R. (2001). Yellow band and dark spot syndromes in Caribbean corals: distribution, rate of spread, cytology, and effects on abundance and division rate of zooxanthellae. En *The ecology and etiology of newly emerging marine diseases*, 53–63. Springer.
- CONANP. (2014). Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan. *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*, 1–180.
- Díaz, J. M., Garzón-Ferreira, J. y Zea, S. (1995). *Los Arrecifes Coralinos de la Isla de San Andrés Colombia: Estado Actual y Perspectivas para su Conservación*.
- Espinosa Neira, Z. N. G. (2019). Estudio de protocolos eficientes en procesamiento de muestras para análisis histológico de tejido óseo y periimplantario. En *Tesis de Maestría*. Universidad Complutense de Madrid, 1–65.
- Galloway, S. B., Woodley, C. M., McLaughlin, S. M., Work, T. M., Bochsler, V. S., Meteyer, C. U., Sileo, L., Peters, E. C., Kramarsky-Winters, E. y Morado, J. F. (2007). *Coral disease and health workshop: coral histopathology II*, 1–84. Silver Spring.
- García-Ayala, G. (2017). Prevalencia de signos de enfermedades y estructura de los ensambles coralinos en arrecifes del Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan. En *Tesis*. Universidad Veracruzana, 1–165.
- García-Benítez, M. (2018). Patrones de Distribución Espacial del Signo de Lunares Oscuros en Remets del Colar *Orbicella annularis*, en el Arrecife Tuxpan, Veracruz. En *Tesis*. Universidad Veracruzana, 1–57.
- Garzón-Ferreira, J., y D. L. Gil. "Another unknown Caribbean coral phenomenon." *Reef Encounter* 24.10 (1998).
- Gil-Agudelo, D. L., y Garzón-Ferreira, J. (2001). Spatial and seasonal variation of dark spots disease in coral communities of the Santa Marta area (Colombian Caribbean). *Bulletin of Marine Science*, 69(2), 619–629.
- Gil-Agudelo, D. L., Cintra-Buenrostro, C. E., Brenner, J., González-Díaz, P., Kiene, W., Lustic, C. y Pérez-España, H. (2020). Coral Reefs in the Gulf of Mexico Large Marine Ecosystem: Conservation Status, Challenges, and Opportunities. *Frontiers in Marine Science*, 6, 1–19.
- Gil-Agudelo, D. L., Fonseca, D. P., Weil, E., Garzón-Ferreira, J. y Smith, G. W. (2007). Bacterial communities associated with the mucopolysaccharide layers of three coral species affected and unaffected with dark spots disease. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(4), 465–471.

- González-Gándara, C. y Salas-Pérez, J. de J. (2019). Caracterización del sustrato bentónico del arrecife Tuxpan, Veracruz, México, con énfasis en la comunidad de corales escleractinios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 54(3), 259–271.
- Greene, A., Leggat, W., Donahue, M. J., Raymundo, L. J., Caldwell, J. M., Moriarty, T., Heron, S. F. y Ainsworth, T. D. (2020). Complementary sampling methods for coral histology, metabolomics and microbiome. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(9), 1012–1020.
- Gutiérrez-Rodríguez, C., Ríos-Cárdenas, O., Sánchez-Guillén, R. A. y González-Tokman, D. (s. f.-a). Arrecifes coralinos. INECOL Instituto de Ecología A.C. Recuperado 3 de junio de 2022, de <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2013-06-05-10-34-10/17-ciencia-hoy/1116-arrecifes-coralinos>
- Harvell, D., Jordán-Dahlgren, E., Merkel, S., Rosenberg, E., Raymundo, L., Smith, G., Weil, E. y Willis, B. (2007). Coral disease, environmental drivers, and the balance between coral and microbial associates. *Oceanography*, 20, 172–195.
- Jordán-Garza, A. G., González-Gándara, C., Salas-Pérez, J. J. y Morales-Barragan, A. M. (2017). Coral assemblages are structured along a turbidity gradient on the Southwestern Gulf of Mexico, Veracruz. *Continental Shelf Research*, 138, 32–40.
- Jordán-Garza, A., González-Gándara, C., Salas-Pérez, J., García-Ayala, G. y Bazaldua-Fajardo, J. (2019). Clave para el Diagnóstico en Campo de Enfermedades de Corales Escleractinios en El Sistema Arrecifal Lobos-Tuxpan, Veracruz. En A. Granados-Barba, L. Ortiz-Lozano, C. González-Gándara, y D. Salas-Monreal (Eds.), *Estudios Científicos en el Corredor Arrecifal del Suroeste del Golfo de México*, 261–280. Universidad Autónoma de Campeche.
- Karleskint, G., Turner, R. y Small, J. (2012). *Introduction to marine biology*. Cengage Learning.
- Kellogg, C. A., Piceno, Y. M., Tom, L. M., DeSantis, T. Z., Gray, M. A. y Andersen, G. L. (2014). Comparing bacterial community composition of healthy and dark spot-affected *Siderastrea siderea* in Florida and the Caribbean. *Plos one*, 9(10), 1–9.
- Kennedy, E. V., Tonk, L., Foster, N. L., Mumby, P. J. y Stevens, J. R. (2019). Temporal stability of *Orbicella annularis* symbioses: a case study in The Bahamas. *Bulletin of Marine Science*, 95(2), 289–304.
- Kerr, J. (2005). Observations on five coral diseases and coral bleaching along the north and west coasts of Dominica, West Indies: a capstone project... En *Tesis*. Universidad del Estado de California, 1–53.
- Laborda, A. J. (2018). Los arrecifes del Pacífico Oriental Tropical, “los otros arrecifes de coral”. *Ambiociencias*, 16, 49–68.
- Loya, Y. (1976). Recolonization of Red Sea corals affected by natural catastrophes and man-made perturbations. *Ecology*, 57(2), 278–289.
- Mera, H. y Bourne, D. G. (2018). Disentangling causation: complex roles of coral-associated microorganisms in disease. *Environmental microbiology*, 20(2), 431–449.
- Meyer, J. L., Rodgers, J. M., Dillard, B. A., Paul, V. J. y Teplitski, M. (2016). Epimicrobiota associated with the decay and recovery of *Orbicella* corals exhibiting dark spot syndrome. *Frontiers in microbiology*, 7, 1–9.
- Montilla, L., Ascanio-Moreno, A., Verde, A. y Croquer, A. (2019). Systematic review and meta-analysis of 50 years of coral disease research visualized through the scope of network theory. *PeerJ*, 7, 1–18.
- Moriarty, T., Leggat, W., Huggett, M. J. y Ainsworth, T. D. (2020). Coral disease causes, consequences, and risk within coral restoration. *Trends in Microbiology*, 28(10), 793–807.
- Muller, E. M. y Van Woesik, R. (2009). Shading reduces coral-disease progression. *Coral reefs*, 28(3), 757–760.
- Muller, E. M. y Van Woesik, R. (2012). Caribbean coral diseases: primary transmission or secondary infection?. *Global Change Biology*, 18(12), 3529–3535.
- NOAA (2018). Stony Coral Tissue Loss Disease Case Definition, Florida Keys National Marine Sanctuary I.
- Perez-Verdin, G., Sanjurjo-Rivera, E., Galicia, L., Hernandez-Diaz, J. C., Hernandez-Trejo, V., y Marquez-Linares, M. A. (2016). Economic valuation of ecosystem services in Mexico: Current status and trends. *Ecosystem Services*, 21, 6–19.

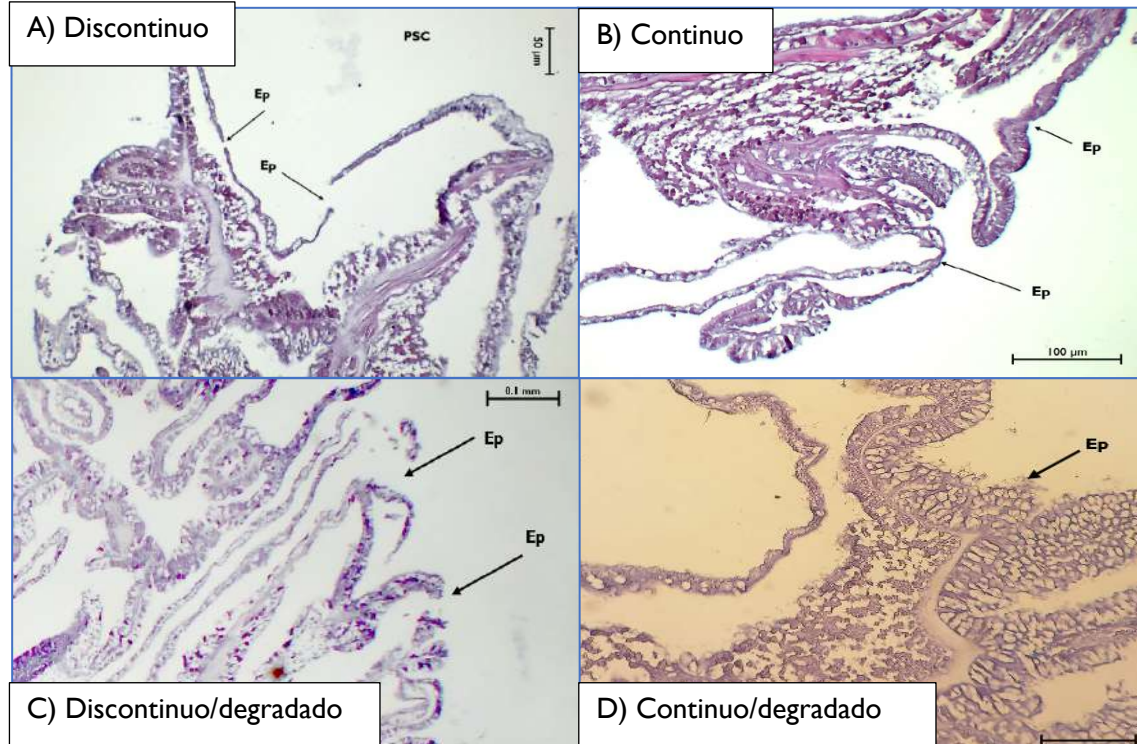
- Peters, E. C., Meyers, P. A., Yevich, P. P. y Blake, N. J. (1981). Bioaccumulation and histopathological effects of oil on a stony coral. *Marine Pollution Bulletin*, 12(10), 333–339.
- Pollock, F. J., Morris, P. J., Willis, B. L. y Bourne, D. G. (2011). The urgent need for robust coral disease diagnostics. *PLoS pathogens*, 7(10), 1–10
- Porter, J. W., Torres, C., Sutherland, K. P., Meyers, M. K., Callahan, M. K., Ruzicka, R. y Colella, M. (2011). Prevalence, severity, lethality, and recovery of dark spots syndrome among three Floridian reef-building corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 408(1–2), 79–87.
- Ramos Sánchez, A. (2017). Análisis de la calidad del agua del río Tuxpan en los municipios de Álamo Temapache y Tuxpan Veracruz. En *Tesis*. Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, 1-41
- Randall, C. J., Jordan-Garza, A. G., Muller, E. M., y van Woesik, R. (2016). Does dark-spot syndrome experimentally transmit among Caribbean corals? *PloS one*, 11(1), 1–16.
- Randall, C. J. y Van Woesik, R. (2017). Some coral diseases track climate oscillations in the Caribbean. *Scientific reports*, 7(1), 1–8.
- Renegar, D.-E. A., Blackwelder, P., Miller, J. D., Gochfeld, D. J. y Moulding, A. L. (2008). Ultrastructural and histological analysis of Dark Spot Syndrome in *Siderastrea siderea* and *Agaricia agaricites*. *Marine & Environmental Sciences Faculty Proceedings, Presentations, Speeches, Lectures.*, 185–189.
- Renegar, D. A., Blackwelder, P. y Gochfeld, D. (2007). Ultrastructural Analysis in the Elucidation of Disease in Corals. *Microscopy and Microanalysis*, 13(S02), 272–273.
- Rodríguez-Villalobos, J. C. (2016). Estado de salud de colonias de *Pocillopora* en el Pacífico Mexicano. En *Tesis*. CICESE, 1-169
- Salas-Monreal, D., Athié, G. y Marín-Hernández, M. (2019). Frentes Térmicos, Partículas Suspendidas, Clorofila-a y Corrientes del Suroeste del Golfo de México. En A. Granados-Barba, L. Ortiz-Lozano, C. González-Gándara, y D. Salas-Monreal (Eds.), *Estudios Científicos en el Corredor Arrecifal del Suroeste del Golfo de México*, 55–74.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental - Especies nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de Especies en Riesgo. Diario Oficial de la Federación 2ª Sección, 30 de diciembre del 2010.
- Shore, A. y Caldwell, J. M. (2019). Modes of coral disease transmission: how do diseases spread between individuals and among populations? *Marine biology*, 166(4), 1-45.
- SIEGVER. (2020). *CUADERNILLOS MUNICIPALES 2020* (Tuxpan). 1-10
- Solano, O. D., Navas Suárez, G. y Moreno-Forero, S. K. (1993). Blanqueamiento coralino de 1990 en el Parque Nacional Natural Corales del Rosario (Caribe, colombiano). *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 22(1), 97–111.
- Sweet, M., Burn, D., Croquer, A. y Leary, P. (2013). Characterisation of the bacterial and fungal communities associated with different lesion sizes of dark spot syndrome occurring in the coral *Stephanocoenia intersepta*. *PLoS One*, 8(4), 1–9.
- Torruco, D., González-Solis, A. y Torruco-González, Á. D. (2021). Large-scale and long-term distribution of corals in the Gulf of Mexico and Caribbean Sea of Mexico and adjacent areas: Corals distribution in Mexico and adjacent areas. *Regional Studies in Marine Science*, 44, 1–10.
- Veron, J. (2013). Overview of the taxonomy of zooxanthellate Scleractinia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 169(3), 485–508.
- Větvíčka, V. y Šíma, P. (1998). Diblastic animals. En *Evolutionary Mechanisms of Defense Reactions*, 19–25. Springer.
- Wang, L., Shantz, A. A., Payet, J. P., Sharpton, T. J., Foster, A., Burkepile, D. E. y Vega Thurber, R. (2018). Corals and their microbiomes are differentially affected by exposure to elevated nutrients and a natural thermal anomaly. *Frontiers in Marine Science*, 5, 1–16.
- Weil, E. (2004). Coral reef diseases in the wider Caribbean. En *Coral health and disease*, 35–68. Springer.
- Woodley, C. M., Downs, C. A., Bruckner, A. W., Porter, J. W. y Galloway, S. B. (2016). *Diseases of coral*. C. M. Woodley, C. A. Downs, A. W. Bruckner, J. W. Porter, y S. B. Galloway (eds.). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

- Woodley, C. M., Harley, R. A., Nicholson, J. H. y Reynolds, T. L. (2016). Pathology. En C. M. Woodley, C. A. Downs, A. W. Bruckner, J. W. Porter, y S. B. Galloway (Eds.), *Diseases of Coral*, 4–15. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Work, T. M. y Rodríguez-Villalobos, J. C. (2015). Recolectando corales para histopatología. *Guía práctica (CICESE)*, 1–12.
- Work, T. y Meteyer, C. (2014). To understand coral disease, look at coral cells. *EcoHealth*, 11(4), 610–618.
- Work, T. M. y Aeby, G. S. (2006). Systematically describing gross lesions in corals. *Diseases of aquatic organisms*, 70(1–2), 155–160.
- Work, T. M., Aeby, G. S., Stanton, F. G. y Fenner, D. (2008). Overgrowth of fungi (endolithic hypermycosis) associated with multifocal to diffuse distinct amorphous dark discoloration of corals in the Indo-Pacific. *Coral Reefs*, 27(3), 663.
- Work, T. M., Richardson, L. L., Reynolds, T. L. y Willis, B. L. (2008). Biomedical and veterinary science can increase our understanding of coral disease. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 362(2), 63–70.
- Work, T. M. y Weil, E. (2016). Dark-Spots Disease. En C. M. Woodley, C. A. Downs, A. W. Bruckner, J. W. Porter, y S. B. Galloway (Eds.), *Diseases of coral*, 354–360. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Yonge, C. M. y Nicholls, A. (1930). Studies on the Physiology of Corals. IV The structure, distribution, and physiology of the zooxanthellae. *Scientific Report of the Great Barrier Reef Expedition*, 1, 135–176.
- Yranzo, A., Villamizar, E., Herrera, A. T., Pérez, J., Boadas, H., Pereira, C., Rodríguez, G., Narciso, S., Bustillos, F. y Cavada-Blanco, F. (2020). Coral pilar estrella y coral estrella montañoso, *Orbicella annularis* y *Orbicella faveolata*, Venezuela. *Venezuela: Instituto de Zoología y Ecología Tropical*, 1–53.
- Zaneveld, J. R., Burkepille, D. E., Shantz, A. A., Pritchard, C. E., McMinds, R., Payet, J. P., Welsh, R., Correa, A. M. S., Lemoine, N. P. y Rosales, S. (2016). Overfishing and nutrient pollution interact with temperature to disrupt coral reefs down to microbial scales. *Nature communications*, 7(1), 1–12.

Anexos

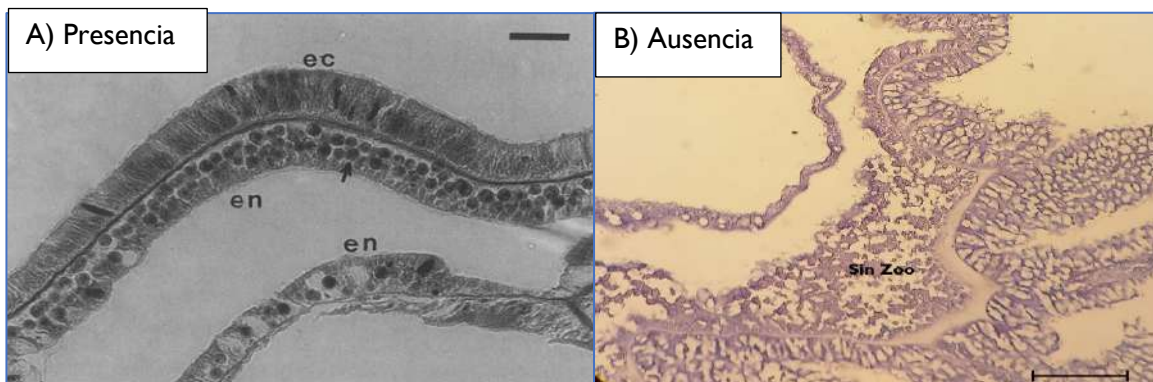
Anexo 1. Catalogo histológico.

(1) Región oral: 1.1 Epitelio

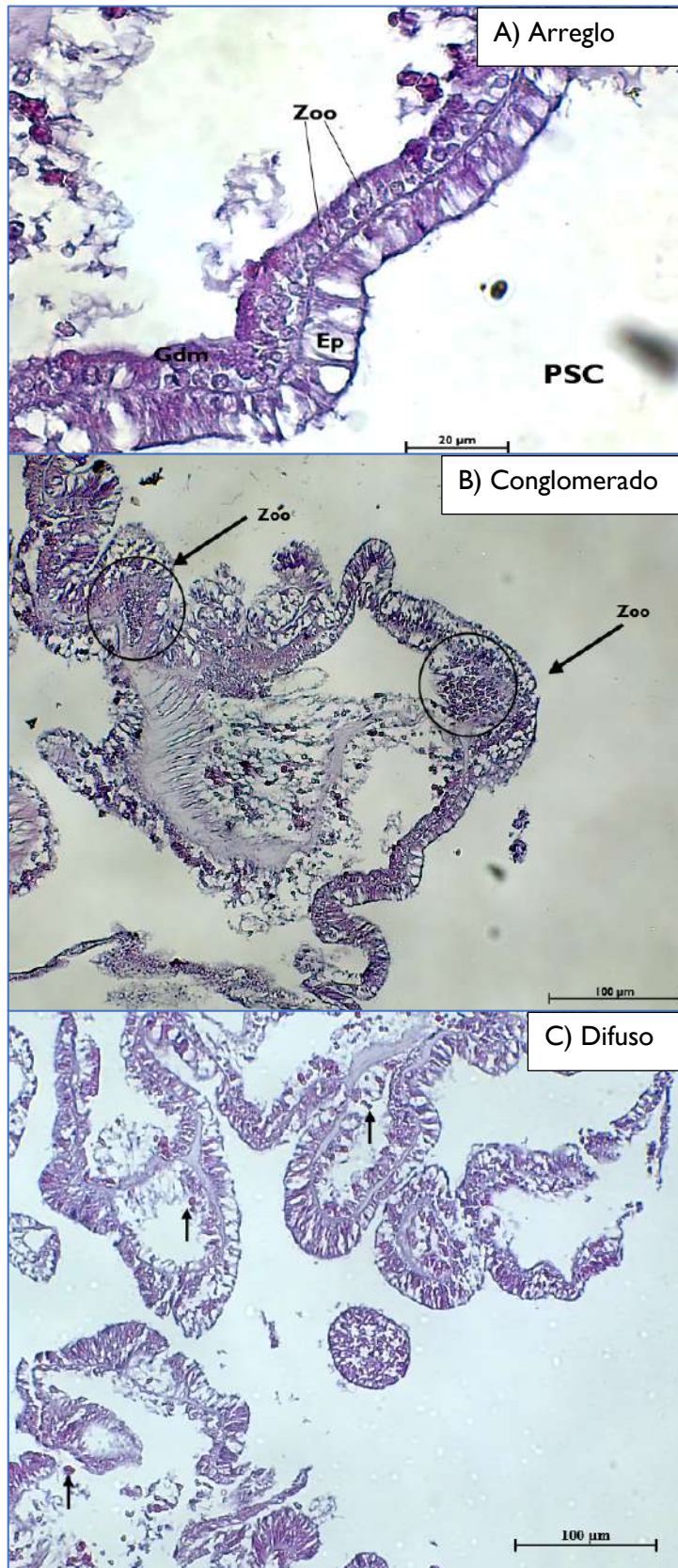


Fotografía 10 A-D. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Epitelio discontinuo (Ep) Epitelio, (PSC) Pared Superficial del Cuerpo; B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Epitelio continuo (Ep) Epitelio; C) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Epitelio discontinuo/degradado (Ep) Epitelio; D) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (40x). Epitelio continuo/degradado (Ep) Epitelio. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

1.2.- Gastrodermis (zooxantelas)

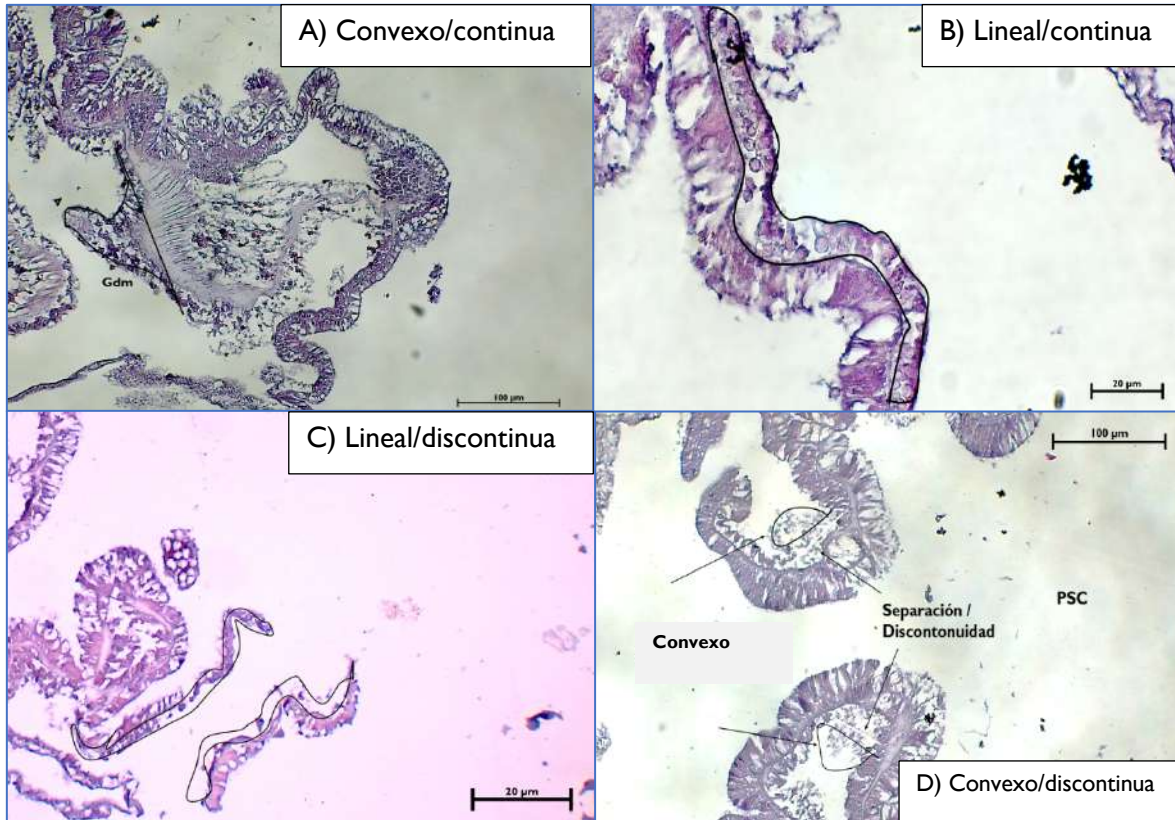


Fotografía 11 A-B. A) Corte Longitudinal *Orbicella annularis* a una escala de 30 µm. A) Gastrodermis de la región oral con presencia de zooxantelas (Ec) Ectodermo, (En) Endodermo y (†) Zooxantelas. B.) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (40x). Gastrodermis de la región oral sin presencia de zooxantelas. A) Tomada y modificada de Szman y Gassman, (1990). *The effects of prolonged "bleaching" on the tissue biomass and reproduction of the reef coral Montastrea annularis*. Pag. 220; B) Tomada por Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.



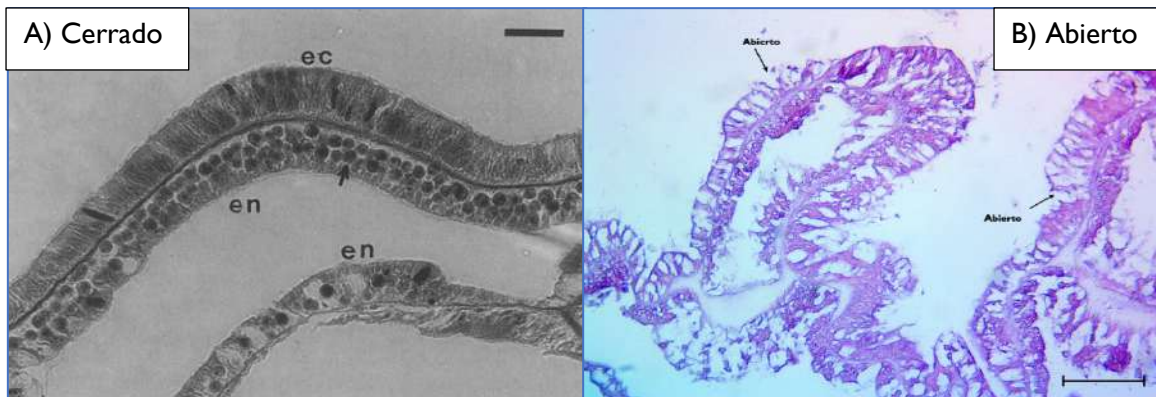
Fotografía 12 A-C. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (40x). Arreglo en el acomodamiento de las zooxantelas en la gastrodermis. Zoo) Zooxantelas, (Gdm) Gastrodermis, (Ep) Epidermis y (PSC) Pared superficial del cuerpo. B) Corte Longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Secciones de la gastrodermis donde se junta las zooxantelas es denomino como conglomerados. (Zoo) Zooxantelas y (O) Localización del conglomerado; C) Corte Longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Gastrodermis de la pared superficial del cuerpo con las zooxantelas dispersas en el espacio asignado como (↑) difuso. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

1.4.- Gastrodermis (Estructura)



Fotografía 13 A-D. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Epitelio convexo/continuo. (o) Forma de la (Gdm) gastrodermis; B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (40x). Epitelio lineal/continuo. (o) Forma de la gastrodermis; C) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Epitelio lineal/discontinuo. (o) Forma de la gastrodermis; D) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Epitelio convexo/discontinuo. (o) Forma de la gastrodermis separándose de la estructura. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

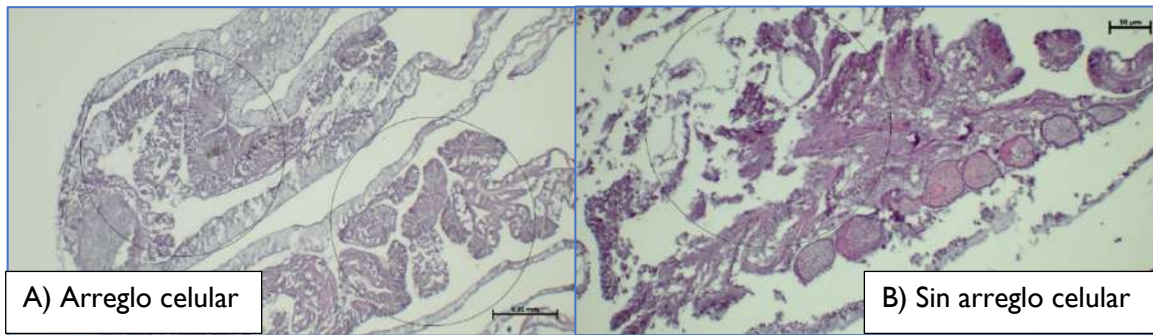
1.5.- Estructuras intraepidérmicas no teñibles



Fotografía 14 A-B. A) Corte Longitudinal *Orbicella annularis* a una escala de 30 µm. Epidermis continuo sin espacios intraepidérmicos. (Ec) Ectodermo, (En) Endodermo y (↑) Zooxantelas. B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Epidermis continua con espacios intraepidérmicos (↑) abiertos. A) Tomada y modificada de Szmant y Gassman, (1990). The effects of prolonged "bleaching" on the tissue biomass and reproduction of the reef coral *Montastrea annularis*. Pag. 220; B) Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

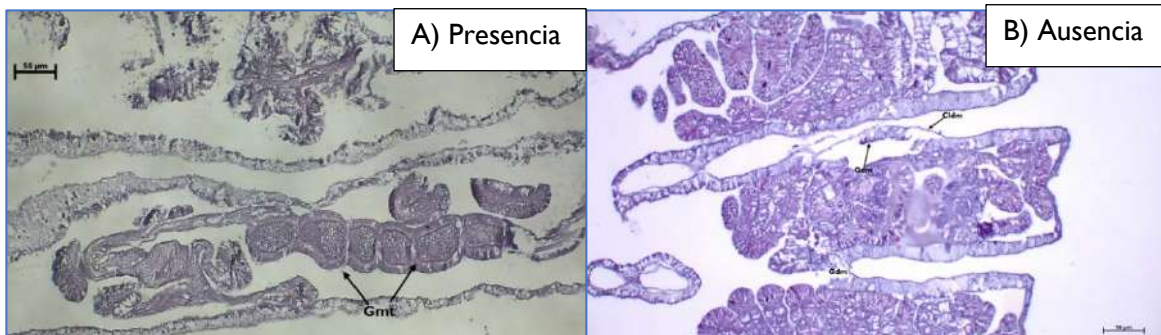
2. Región media

2.1.- Cavity gastrovascular



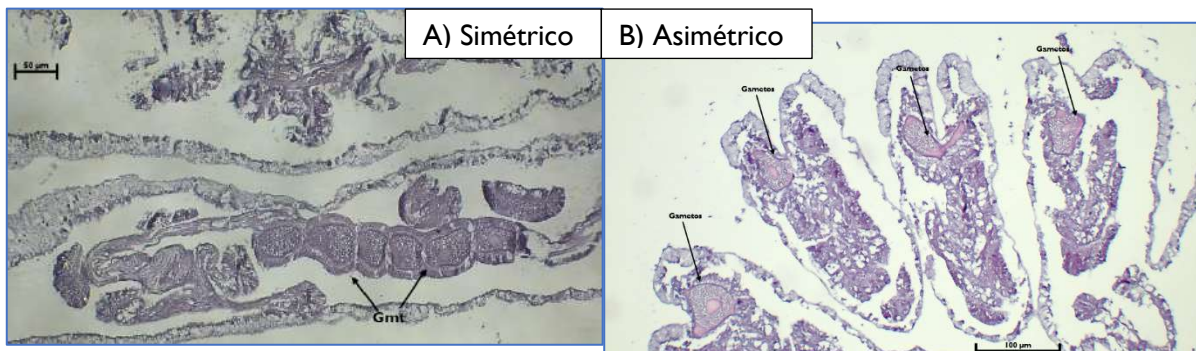
Fotografía 15 A-B. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Cavity gastrovascular with (O) cellular arrangement. B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Cavity gastrovascular without (O) cellular arrangement and dispersion of the internal structures. Taken by: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

2.2.- Gametes



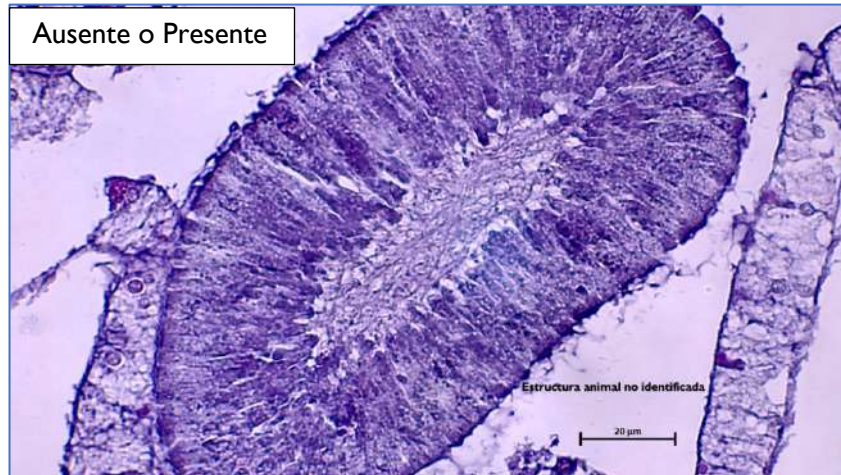
Fotografía 16 A-B. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Cavity gastrovascular with presence of (Gmt) gametes. B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Cavity gastrovascular without presence of gametes. (Gdm) Gastrodermis and (Cldm) Calicodermis. Taken by: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

2.3.- Shape of the gamete



Fotografía 17 A-B. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Cavity gastrovascular with the shape of the gametes semicircular or oval (Gmt) gametes. B) Corte transversal *Orbicella annularis* (4x). Cavity gastrovascular with the shape of elongations at the periphery giving a star-like shape to the gametes. Taken by: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

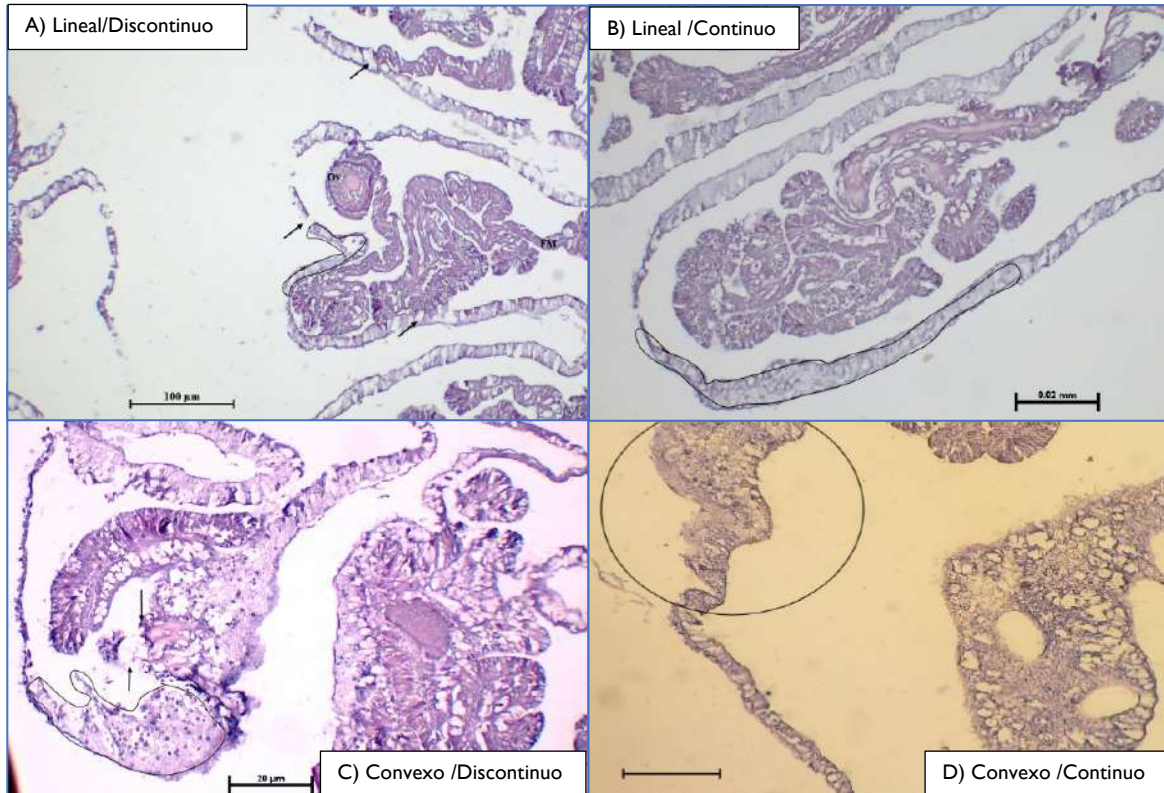
2.4.- Animal structure not identified



Fotografía 18. Estructura posiblemente animal no identificada. Ausente o presente.
Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

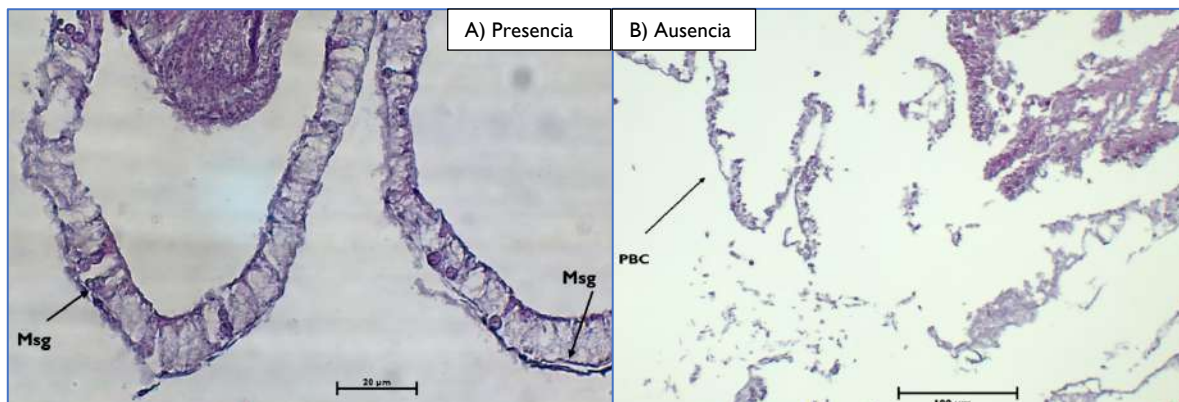
(3) Región aboral

3.1.- Gastrodermis (Estructura)



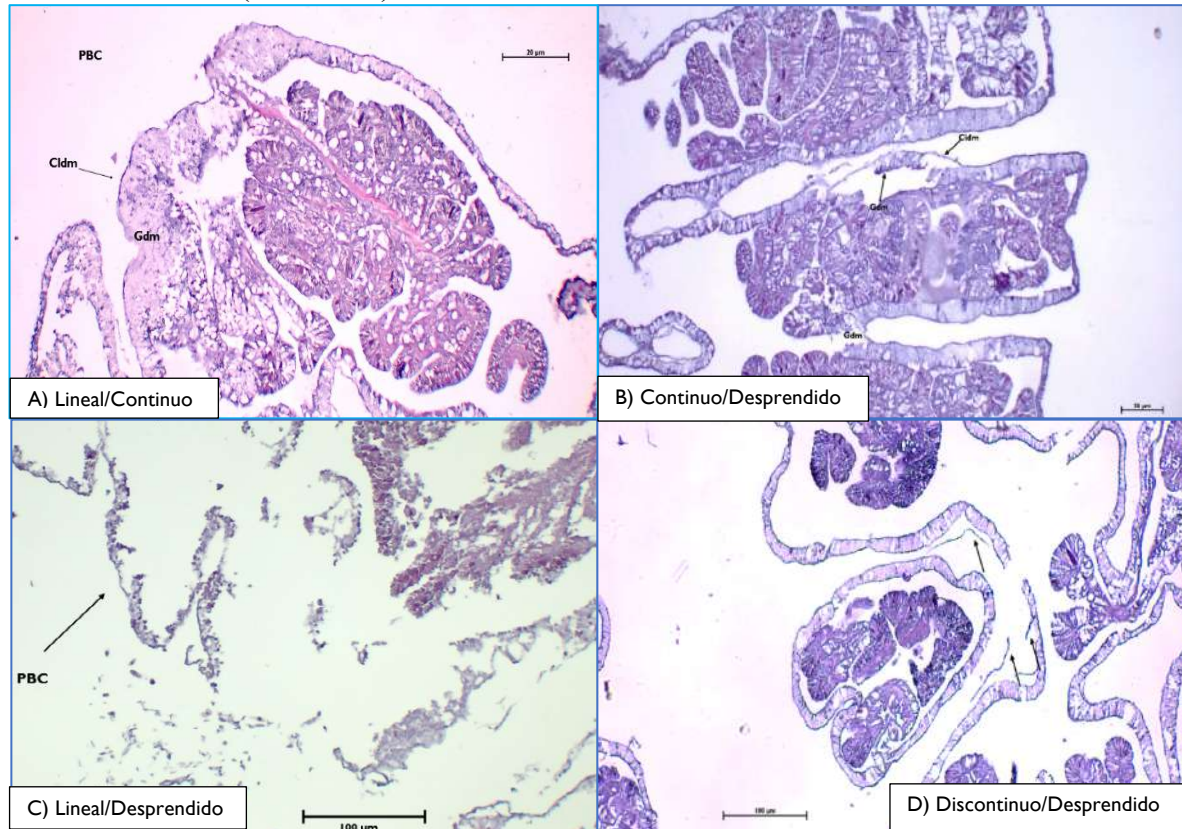
Fotografía 19 A-D. A) Corte transversal *Orbicella annularis* (4x). Región aboral, aledaña al esqueleto. Gastrodermis con forma lineal/discontinuo. (O)Forma de la (Gdm) gastrodermis; Ov) Ovocitos y (↑) Discontinuidad. B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Región aboral, aledaña al esqueleto. Gastrodermis con forma lineal/continuo. (O)Forma de la gastrodermis; C) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Región aboral, aledaña al esqueleto. Gastrodermis con forma convexa/discontinua. (o)Forma de la gastrodermis y (↑) Discontinuidad; D) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (40x). Región aboral, aledaña al esqueleto. Gastrodermis con forma convexa/continua. (O) Forma de la gastrodermis. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

3.2.-Mesoglea.



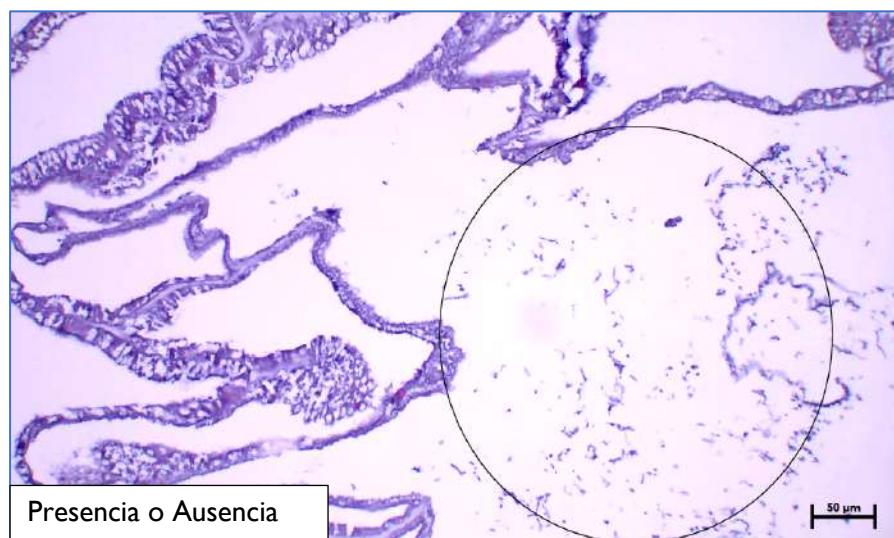
Fotografía 20 A-B. A) Corte transversal *Orbicella annularis* (40x). Presencia de la (Msg) Mesoglea. B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Ausencia de la (Msg) Mesoglea de la (PBC) pared basal de cuerpo. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

3.3.- Calicodermis (Estructura).



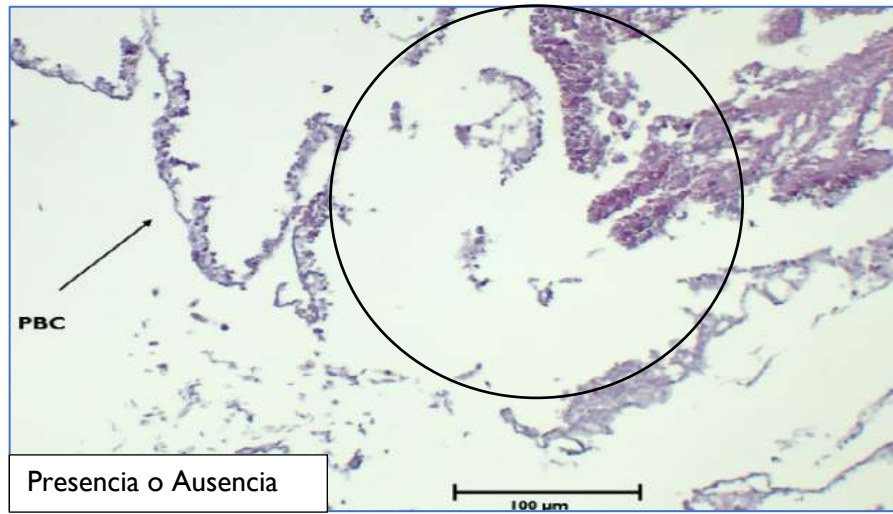
Fotografía 21 A-B. A) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). (PBC) Pared basal del cuerpo, ubicada la (Gdm) y (Cld) Calicodermis con forma lineal/discontinuo. B) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Calicodermis con forma continuo/desprendido; C) Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). Región aboral, (PBC) pared basal del cuerpo con calicodermis lineal/desprendida; D) Corte transversal *Orbicella annularis* (40x). Calicodermis con forma (↑) discontinua/desprendida. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

3.4 Material celular disperso.



Fotografía 22. Corte longitudinal *Orbicella annularis* (4x). (O) Material celular disperso en la región aboral. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

3.5 Alteraciones celulares Proximales al área.



Fotografía 23. Corte longitudinal *Orbicella annularis* (10x). Presencia de alteraciones celulares (O) cercanas a la (PBC) pared basal del cuerpo en la parte interna del pólip. Tomada por: Del Angel Lemus, Milagros Olimpia.

Anexo 2. Matriz de datos dummy para los análisis multivariados.

Tabla 7 Matriz de datos de los caracteres morfológicos encontrados en las muestras con y sin signo (Código de las muestras S=Sitio, C=Colonia y Estado de salud, E=Enferma o S= Sana)

1. Oral					
	1.1 Epitelio (1= Discontinuo, 2= Continuo, 3=Continuo degradado, 4= Discontinuo Degradado)	1.2 Gastrodermis (0=Ausencia, 1=Presencia)	1.3 Posición Zoo en Gastro. (1=Disperso, 2=Arreglo lineal, 3= Conglomeradas)	1.4 Estructura de la Gastrodermis (1=Lineal Continua, 2=cóncava continua, 3=Lineal discontinua, 4= cóncava discontinua)	1.5 Estructura intraepidérmicas no teñibles (0=Cerrado, 1=Abierto)
SI-C1 S	2	1	2	1	1
SI-C2-S	4	1	3	4	1
SI-C4-S	2	1	2	1	1
SI-C1 E	3	1	1	2	1
SI-C2-E	4	1	1	4	1
SI-C4-E	4	1	1	4	1
2. Pólipo					
	2.1 Cavidad Gastrovascular (1=No arreglo celular, 2=Arreglo celular)	2.2 Gametos (0=Ausencia, 1=Presencia)	2.3 Forma de los gametos (1=asimétrico, 2= simétrico, 3=Ambas, 0=No aplica)	2.4 Estructura animal no identificada (0= Ausencia, 1=Presencia)	
SI-C1 S	2	1	2	1	
SI-C2-S	2	1	2	0	
SI-C4-S	1	1	3	0	
SI-C1 E	2	0	0	0	
SI-C2-E	2	0	0	0	

SI-C4-E	2	I	I	0
----------------	---	---	---	---

3. Aboral

	3.1 Estructura de la Gastrodermis (1=Lineal Continua, 2=cóncava continua, 3=Lineal discontinua, 4= cóncava discontinua)	3.2 Mesoglea (1=Presente, 0=Ausente)	3.3 Calicodermis (1= Lineal Discontinua, 2= Lineal Continua, 3=Desprendido continuo, 4=Desprendido discontinuo)	3.4 Material celular disperso (0=Ausencia, 1=Presencia)	3.5 Alteraciones Celulares Proximales al área (0=Ausencia, 1=Presencia)
SI-C1 S	2	I	2	0	0
SI-C2-S	2	I	I	I	I
SI-C4-S	3	0	4	I	I
SI-C1 E	3	I	2	I	I
SI-C2-E	4	I	2	0	I
SI-C4-E	4	I	I	I	I

4. Coenenquima

	4.1 PSC estructura (1=Discontinuo, 2=Continuo)	4.2 PSC Grosor (1=Delgado, 2=Grueso)	4.3 PBC grosor (1=Delgado, 2=Grueso)	4.4 PBC estructura (0=Discontinuo, 1=Continuo)	4.5 Posición Zooxantelas en la Gastrodermis (1=Dispersa, 2=Arreglo lineal, 3= Conglomeradas)	4.6 Estructura de la Gastrodermis (1=Lineal Continua, 2=cóncava continua, 3=Lineal discontinua, 4= cóncava discontinua)	4.7 Estructura intraepidérmicas no teñibles (0=Cerrado, 1=Abierto)	4.8 Calicodermis (1= Lineal Discontinua, 2= Lineal Continua, 3=Desprendido continuo, 4=Desprendido discontinuo)
SI-C1 S	2	I	I	I	2	I	I	2
SI-C2-S	I	I	I	I	I	3	I	I
SI-C4-S	I	I	I	0	2	3	I	4

SI-C1 E	2	2	1	1	1	2	1	2
SI-C2-E	1	1	1	0	1	3	1	1
SI-C4-E	1	2	1	0	1	4	1	1