

## Mortalidad por nodavirus en mero (*Epinephelus marginatus* L., 1758) de la Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas, Murcia

José Peñalver<sup>1</sup>, Emilio María-Dolores<sup>1</sup>, José Antonio García-Charton<sup>2</sup>, Marcelo Martínez<sup>1</sup>, José Javier Pérez<sup>1</sup>, Miguel Ángel Sánchez<sup>1</sup>, Elena San Miguel<sup>3</sup>, Ana Rocha<sup>3</sup> & María Pilar Fernández-Somalo<sup>3</sup>

1 Servicio de Pesca y Acuicultura, Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente. Edificio Foro II, 30201, Cartagena, Murcia.

2 Depto. Ecología e Hidrología, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia.

3 Laboratorio Central de Veterinaria, MAPA, 28110 Algete, Madrid.

### Resumen

Correspondencia

J. Peñalver

E-mail: jose.penalver2@carm.es

**Recibido:** 26 noviembre 2019

**Aceptado:** 10 marzo 2020

**Publicado on-line:** 20 abril 2020

Los nodavirus afectan a gran número de especies de peces, silvestres y cultivadas. En silvestres se ha aislado en diversas especies, pero nunca se había asociado con procesos clínicos en el litoral de Murcia. En otoño de 2017, se detectaron diversos ejemplares de meros (*Epinephelus marginatus* y *E. costae*) en la Reserva de Cabo de Palos con sintomatología clínica compatible con nodavirus. La infección por nodavirus fue confirmada mediante RT-PCR en tiempo real y su posterior genotipado (tipo RGNNV). Este hallazgo constituye la primera evidencia regional de infección clínica por nodavirus en peces silvestres, con la relevancia añadida de que la especie afectada es la especie emblemática de la Reserva Marina de Cabo de Palos, el mero.

**Palabras clave:** Nodavirus; Mero; Mortalidad; Cabo de Palos.

### Abstract

*Mortality by nodavirus in grouper (Epinephelus marginatus L., 1758) from the Cabo de Palos and Islas Hormigas Marine Reserve, Murcia*

Nodaviruses affect a large number of fish species, wild and farmed. In the wild it has been isolated in various species, but it had never been associated with clinical processes on the coast of Murcia. In autumn 2017, several specimens of groupers (*Epinephelus marginatus* and *E. costae*) were detected in the Cabo de Palos Reserve with clinical symptoms compatible with nodavirus. The infection by nodavirus was confirmed by real time RT-PCR and its subsequent genotyping (RGNNV type). This finding constitutes the first regional evidence of clinical infection by nodavirus in wild fish, with the added relevance that the affected species, the grouper, is the emblematic species of the Cabo de Palos Marine Reserve.

**Key words:** Nodavirus; Grouper; Mortality; Cabo de Palos.

## Introducción

La encefalopatía y retinopatía viral (VER) o necrosis nerviosa viral (NNV) está producida por virus de la familia Nodaviridae. Tradicionalmente esta familia comprende dos grupos de virus en función del hospedador: los alfanodavirus que afectan a insectos y los betanodavirus que afectan a peces. Recientemente se han descubierto otros nodavirus que afectan a crustáceos y que van a formar el grupo de los gammanodavirus (Yong *et al.* 2017). Los betanodavirus afectan a más de 120 especies de peces, principalmente marinos, aunque también se ha descrito en especies continentales (OIE 2017). Los peces infectados por nodavirus sufren trastornos neurológicos, que se caracterizan por vacuolización intensa de retina y sistema nervioso central y que produce una natación anormal y oscurecimiento de color de peces (Munday & Nakai 1997). Los betanodavirus son virus sin envoltura y esféricos, y miden unos 25 nm de diámetro. El genoma está formado por dos moléculas de ARN monocatenario de sentido positivo: ARN1 (3,1 kb) codifica la replicasa (110 kDa) y ARN2 (1,4 kb) codifica la proteína de recubrimiento (42 kDa) (OIE 2017). Según este mismo organismo internacional de sanidad animal, los betanodavirus se pueden clasificar en 4 genotipos en función de las especies hospedadoras diana y de la temperatura óptima de crecimiento *in vitro*: SJNNV, virus de la necrosis nerviosa del jurel dentón, con temperatura de crecimiento de 20-25 °C; TPNNV, virus de la necrosis nerviosa de *Takifugu rubripes* (Temminck & Schlegel, 1850), 20 °C; BFNNV, virus de la necrosis nerviosa de *Verasper moseri* Jordan & Gilbert, 1898, que afecta a peces de aguas frías: halibut, bacalao del Atlántico, lenguados, etc. de 15-20 °C y RGNNV, virus de la necrosis nerviosa de mero de pintas rojas, que afecta a peces de aguas cálidas: perca gigante, lubina, meros, etc., y que tiene una temperatura óptima de crecimiento de 25-30 °C.

Las características epidemiológicas más importantes de los betanodavirus son (OIE 2017): muy resistentes en el medio acuático, pudiendo sobrevivir durante mucho tiempo en aguas marinas a bajas temperaturas, mientras que a 25 °C o más, la supervivencia disminuye; la contaminación del medio acuático tras la aparición de un brote puede persistir durante largos periodos y suponer una fuente de infección para especies sal-

vajes susceptibles; teniendo en cuenta que el agua es el principal vector abiótico, los betanodavirus se pueden propagar fácilmente, durante un brote clínico, de una parte de la piscifactoría a otra directamente por el agua y contaminando personal, redes, botas y demás equipo, y pudiendo pasar al medio ambiente, siendo el comercio de juveniles infectados la forma más frecuente de propagación de grandes cantidades de partículas víricas en el medio; la transmisión de la enfermedad es horizontal, pero también vertical pasando a la descendencia.

La infección por betanodavirus es uno de los principales problemas emergentes de sanidad animal piscícola que afecta a peces tanto silvestres como de acuicultura, desde su primera descripción en 1988, especialmente a especies marinas, pero también produce enfermedad en especies continentales (Bovo *et al.* 2011). Su distribución es mundial (Munday *et al.* 2002), teniendo una elevada prevalencia en el Mediterráneo, donde se describió por primera vez en Italia en 1995 (Bovo *et al.* 1996), con numerosos brotes descritos en acuicultura (Bovo *et al.* 1999, Athanassopoulou *et al.* 2003, Uclo *et al.* 2004, Barja 2004, Cherif *et al.* 2009). Una de las especies principales objeto de cultivo, la lubina (*Dicentrarchus labrax* (L., 1758)) es precisamente de las especies más sensibles a este virus, en concreto al genotipo RGNNV. A esto hay que añadir que recientemente se ha descubierto que las larvas de la otra gran especie de cultivo de nuestras costas, la dorada (*Sparus aurata* L., 1758), también es sensible a un nuevo nodavirus recombinante de los genotipos RGNNV y SJNNV (Toffan *et al.* 2017).

La mortalidad puede llegar al 100% en alevines y juveniles (Skiriris *et al.* 2001). Sin embargo, a pesar de su gravedad, esta enfermedad no es de declaración obligatoria para la OIE ni para la Unión Europea, por lo que no se dispone de estadísticas oficiales, si bien es conocido por los profesionales del sector que es frecuente su incidencia a finales de verano y otoño en granjas acuícolas de lubina, en todo el Mediterráneo, así como en el litoral español (Zarza & Padrós 2007). En estudio de vigilancia epidemiológica (Peñalver *et al.* 2011), se detectó el virus en ejemplares asintomáticos de granjas de Canarias y Murcia. Han sido detectados nodavirus en gran número de especies de peces silvestres por todo el mundo (Gómez *et al.* 2004, Peñalver *et al.* 2011, Cherif

*et al.* 2017), sin embargo, los episodios de mortalidad son poco frecuentes, o al menos no son registrados. En el Mediterráneo, se considera la etiología causante de mortalidades en meros (Vendramín *et al.* 2013, Haddad-Boubaker *et al.* 2014, Kara *et al.* 2014, Condini *et al.* 2017, Valencia *et al.* 2019) y de varios tipos de mugílidos en el mar Caspio (Ghiasi *et al.* 2016), habiéndose detectado recientemente en morenas (*Muraena helena*, L. 1758) alrededor de Ibiza y Formentera (Valencia *et al.* 2018). El virus también se ha detectado en peces silvestres merodeadores de granjas de acuicultura asintomáticos: en España en peces de Galicia y la Región de Murcia (Peñalver *et al.* 2011) o en las costas de Túnez (Cherif *et al.* 2017), por lo que la posibilidad de transmisión desde las granjas hacia el medio marino y viceversa son hipótesis muy realistas.

Los meros (Serranidae: Epinephelinae) son considerados, junto al jurel dentón (*Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider 1801)), la lubina y los peces planos, como las especies más sensibles a los betanodavirus (OIE 2017), estando documentados numerosos episodios de mortalidad en estas especies tanto en ejemplares cultivados como silvestres en Asia (Munday *et al.* 2002). De hecho se considera que es un factor limitante en el posible desarrollo de la acuicultura de esta especie con fines de consumo humano o para programas de repoblación (Vendramín *et al.* 2013). En el Mediterráneo, este virus ha sido detectado en ejemplares asintomáticos en distintas especies de meros silvestres: *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Marino y Azzurro, 2011), *Epinephelus aeneus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817) (Maltese *et al.* 2005) y *Epinephelus costae* (Steindachner, 1878) (Panzarín *et al.* 2012); por otra parte, son numerosos los casos en los que se atribuye a nodavirus episodios de casos clínicos y mortalidad asociada en meros en diversas ubicaciones: Sicilia, Córcega, Islas Baleares, Argelia, Túnez o Grecia (Marino & Azzurro 2001, Panzarín *et al.* 2012, Vendramín *et al.* 2013, Haddad-Boubaker *et al.* 2014, Kara *et al.* 2014, Valencia *et al.* 2019), aunque algunos de ellos no han sido adecuadamente contrastados ni han sido incluidos en comunicaciones científicas (Vendramín *et al.* 2013). La demostración de que los nodavirus han sido la causa de brotes de mortalidad en meros silvestres en el Mediterráneo ha sido finalmente constatada en algunos trabajos en Italia (Vendramín *et al.*

2013), Argelia (Haddad-Boubaker *et al.* 2014), Túnez (Kara *et al.* 2014) y Baleares (Valencia *et al.* 2019).

A finales de verano y en otoño de 2017, se detectó la aparición de diversos ejemplares de meros (*E. marginatus* y *E. costae*) en la Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas (Murcia, España) con sintomatología clínica compatible con infección por nodavirus. El presente estudio tiene por objetivo describir este episodio, y con ello ampliar el rango geográfico de observación de esta enfermedad en meros en el Mediterráneo.

## Material, Métodos y Resultados

### Área de estudio

La Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas es una reserva marina de interés pesquero creada en el año 1995 para proteger las comunidades marinas y las poblaciones de interés pesquero con el fin de asegurar en la zona la existencia de reproductores y la exportación de huevos, larvas, juveniles y adultos a las áreas de pesca próximas (García-Charton *et al.* 2017). Es un espacio natural protegido submarino, junto a pequeños afloramientos rocosos, que se encuentra en Cartagena en la Región de Murcia, y abarca una superficie de 18,98 km<sup>2</sup>. Consta de una reserva integral en el entorno de la Isla Hormiga, una zona de aguas interiores gestionada por la Comunidad Autónoma de Murcia; y otra de aguas exteriores competencia de la Administración General del estado. Las actividades en cada una de estas zonas están reguladas. La reserva marina ofrece la posibilidad de realizar actividades de bajo impacto (buceo, educación ambiental, etc.) que contribuyan al desarrollo económico de su área de influencia. Son destacables las grandes praderas de fanerógamas (*Posidonia oceanica* (L.) Delile) así como los fondos coralígenos que conforman el hábitat de numerosas especies vegetales y animales (María-Dolores & Bermúdez 1997). En lo referente a las especies de peces, según el Informe de Seguimiento de la Reserva de Cabo de Palos e Isla Hormigas (García-Charton *et al.* 2019), se contabilizaron mediante censos visuales 61 especies, pertenecientes a 23 familias, siendo las familias con mayor número de representantes espáridos (con 15 especies), lábridos (12 especies) y serránidos (8

especies).

### Especie estudiada

El mero, *Epinephelus marginatus* (Serranidae), es la especie más emblemática de la Reserva de Cabo de Palos e Islas Hormigas, teniendo gran importancia económica, especialmente para la flota pesquera artesanal (Begossi *et al.* 2012). Esa especie convive en esta zona con otras especies de “meros”: *Epinephelus costae* (falso abadejo) y *Mycteroperca rubra* (Bloch, 1793) (cherna), habiéndose observado asimismo *Epinephelus caninus* (Valenciennes, 1843), siendo esta especie mucho más rara (García-Charton *et al.* 2019). El mero se distribuye de forma discontinua en el Mediterráneo, costas atlánticas de Europa y África, así como costas atlánticas de Sudamérica, si bien, debido principalmente a la gran presión pesquera, esta especie ha sufrido un fuerte declive en sus poblaciones (Condini *et al.* 2018). Su hábitat principal lo constituyen fondos rocosos. Los meros son peces carnívoros, predadores oportunistas con actividad diurna y crepuscular (Condini *et al.* 2011) alimentándose de crustáceos, peces y moluscos (principalmente cefalópodos), si bien su dieta se adapta a las condiciones medio ambientales y a la abundancia relativa de las potenciales presas.

### Descripción de caso, análisis y resultados

A partir de la tercera semana de agosto de 2017, se observaron diversos ejemplares moribundos de meros en las costas de la Reserva de Cabo de Palos e Islas Hormigas. Algunos ejemplares se observaron varados en la costa, pero la mayoría se observaron con una natación errática y anómala. El total de ejemplares con sintomatología sospechosa registrados fue de diez (nueve *E. marginatus* y un *E. costae*). La mayoría de las observaciones fueron reportadas por el personal de los clubes de buceo con actividad en la reserva. Dicha anomalía fue comunicada al Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia, asumiendo este organismo la coordinación y gestión de las investigaciones. Debido a la sintomatología descrita por los testigos, se sospechó desde el inicio de una posible infección por nodavirus, por lo que se estableció el protocolo específico de toma de muestras.

Sin embargo, desde la instauración del protocolo de muestreo solamente se halló un ejemplar sospechoso, que por tanto fue el único que pudo

ser analizado y sobre el que se realizó el correspondiente diagnóstico virológico. Un ejemplar moribundo de *E. marginatus* fue hallado el 3 de octubre de 2017 en la playa de Levante de Cabo de Palos. El ejemplar fue trasladado a la Estación de Acuicultura Marina del IMIDA en San Pedro del Pinatar para la realización de la necropsia reglada por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura de la Dirección General de la Producción Agraria, Ganadera y Medio Marino de la Región de Murcia. Era un ejemplar adulto joven de 3,7 kg de peso y 65 cm de longitud. Se procedió a la toma de dos muestras de cerebro y una de ojo para su análisis virológico. A los tejidos se les añadió conservante específico (RNAlater®) y se enviaron al Laboratorio Central de Veterinaria (LCV) del MAPA.

En el LCV, se analizaron las muestras mediante aislamiento celular en la línea celular SSN-1 a 25 °C, siguiendo el procedimiento descrito en *El manual acuático de la OIE*, capítulo 2.3.12, y RT-PCR en tiempo real de acuerdo con el protocolo Panzarin *et al.* (2010). Para ello, se extrajo el ARN de 200 µl de la muestra homogeneizada preparada en el MagNA Lyser (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) mediante un procedimiento automático utilizando el robot (BioSprint 96), siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se realizó una RT-PCR en tiempo real utilizando el kit de RT-PCR de un solo paso AgPath-IDTM (Applied Biosystems Branchburg, NJ.). Las tres muestras analizadas confirmaron la presencia de genoma viral de nodavirus.

El virus detectado se caracterizó por secuenciación parcial de ambos segmentos del genoma (ARN1 y ARN2) de acuerdo con el protocolo de Bovo *et al.* (2011). Con el ARN extraído de los sobrenadantes de los cultivos celulares positivos, se realizó una RT-PCR convencional de cada uno de los dos segmentos utilizando el kit comercial *SuperScript II One-Step RT-PCR*. Los amplicones fueron secuenciados en ambas direcciones con los mismos cebadores que los utilizados en la RT-PCR usando el kit comercial *Big Dye Terminator v3.1 cycle sequencing* (Applied Biosystems). Las secuencias parciales de ARN1 (945 nts) y ARN2 (570 nts) se alinearon y compararon con las regiones correspondientes de cepas de betanodavirus representativas disponibles públicamente en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) obteniéndose el genotipo de nodavirus RGNNV/ RGNNV, virus de la necrosis nerviosa de mero de pintas rojas.

Los árboles filogenéticos se desarrollaron utilizando el método de máxima similitud ejecutado por el programa PhyML (v3.0) y seleccionando el modelo evolutivo de sustitución HKY85. Este análisis indicó que el virus detectado presentaba mayor similitud con las cepas víricas españolas procedentes de lubina (*D. labrax*) y dorada (*S. aurata*) cuya similitud es idéntica con las muestras (324.1.2006/Spain y 324.2.2006/Spain) que con las cepas víricas detectados en mero (*E. marginatus*) en distintos países de la cuenca mediterránea, Italia, Grecia, Túnez e incluso España. En la figura 1, se representan los árboles filogenéticos. Los archivos TREE correspondientes están disponibles como material suplementario *on-line*: Filogenia basada en [ARN1](#) y [ARN2](#).

## Discusión

En el presente trabajo, se describe la primera evidencia en el litoral de la Región de Murcia de infección clínica por nodavirus en peces silvestres, con la relevancia añadida de que la especie afectada, el mero, es la especie más emblemática de la Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas.

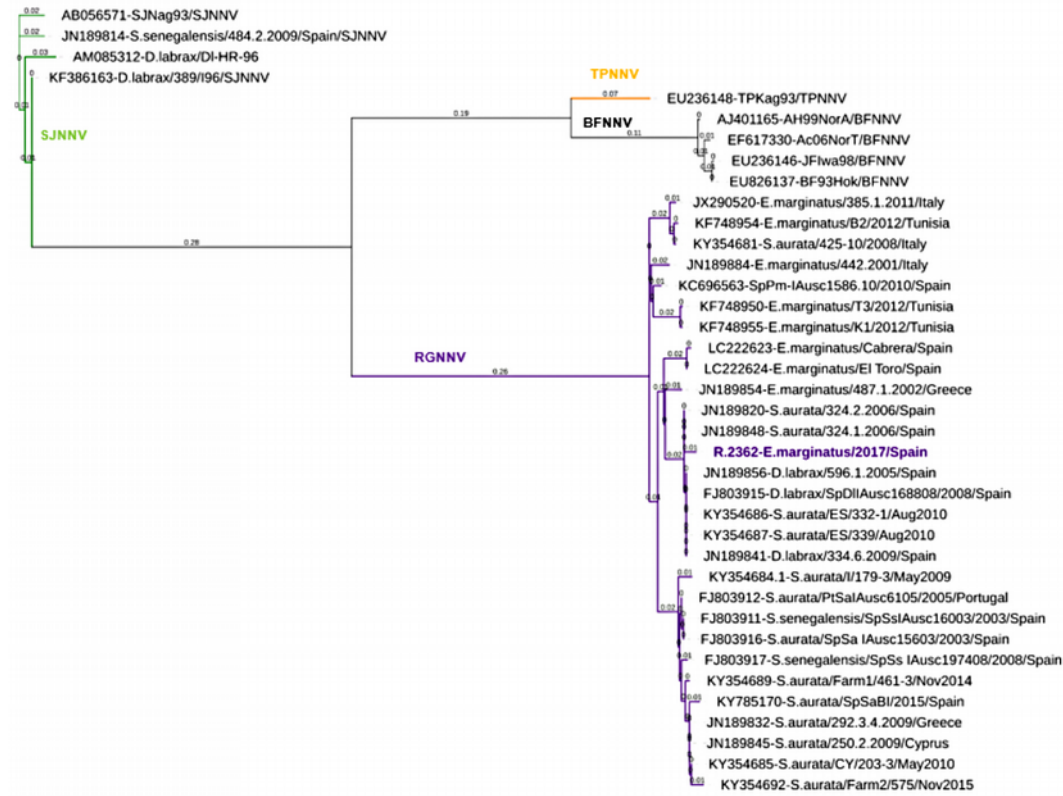
Los meros son un grupo de peces muy sensibles a nodavirus. Se han descrito afecciones tanto en peces de acuicultura como en peces silvestres (Ciulli *et al.* 2007, Gomez *et al.* 2009, Vendramín *et al.* 2013, Kara *et al.* 2014, Young *et al.* 2017). La lista de especies sensibles de peces a nodavirus es muy extensa (OIE, 2017), estando muchas de estas especies en el Mediterráneo. Sin embargo, los casos de mortalidad referenciados en este mar se limitan a muy pocas especies: lubina (*D. labrax*), meros (*E. marginatus* y *E. costae*) (Vendramín *et al.* 2013, Haddad-Boubaker *et al.* 2014, Kara *et al.* 2014, Valencia *et al.* 2019), morenas (*M. helena*) (Valencia *et al.* 2018) y en varios tipos de mugilidos (*Chelon auratus* (Risso, 1810) y *Chelon saliens* (Risso, 1810)) en el Mar Caspio (Ghiasi *et al.* 2016). Es decir, los meros son de las especies con más brotes de nodavirus en peces silvestres en el Mediterráneo a pesar de su prevalencia en peces silvestres de muy diversas especies. Todo ello, nos permite concluir que las especies de meros son muy sensibles a esta infección, enfermando como consecuencia de la infección con mayor probabilidad que otras especies que también se infectan pero raramente enferman. También se debe tener en cuenta que un mero

enfermo o muerto es fácilmente reconocible y relativamente sencillo de detectar, especialmente en zonas con gran actividad de buceo, de pesca, de actividades náuticas y actividades recreativas en la playa, como es el caso de la Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas. Estas características han permitido que otros brotes de esta enfermedad hayan sido detectados en meros de otras áreas marinas protegidas del Mediterráneo con anterioridad (Marino & Azzurro 2001, Valencia *et al.* 2019). Según el censo de especies de la Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas de 2018, se han determinado 61 especies (García-Charton *et al.* 2019). De estas especies, 6 son reconocidas por la OIE en su informe de 2017 como especies sensibles a enfermar por nodavirus: mero (*E. marginatus*), lubina (*D. labrax*), lecha (*Seriola dumerili* (Risso, 1810)), jurel limón (*Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider, 1801)), salmonete (*Mullus surmuletus* L., 1758) y mújol (*Mujil* L., 1758 spp). Sin embargo, el brote sólo afectó a ejemplares de mero, lo cual redundaba en la idea de su especial sensibilidad a esta enfermedad.

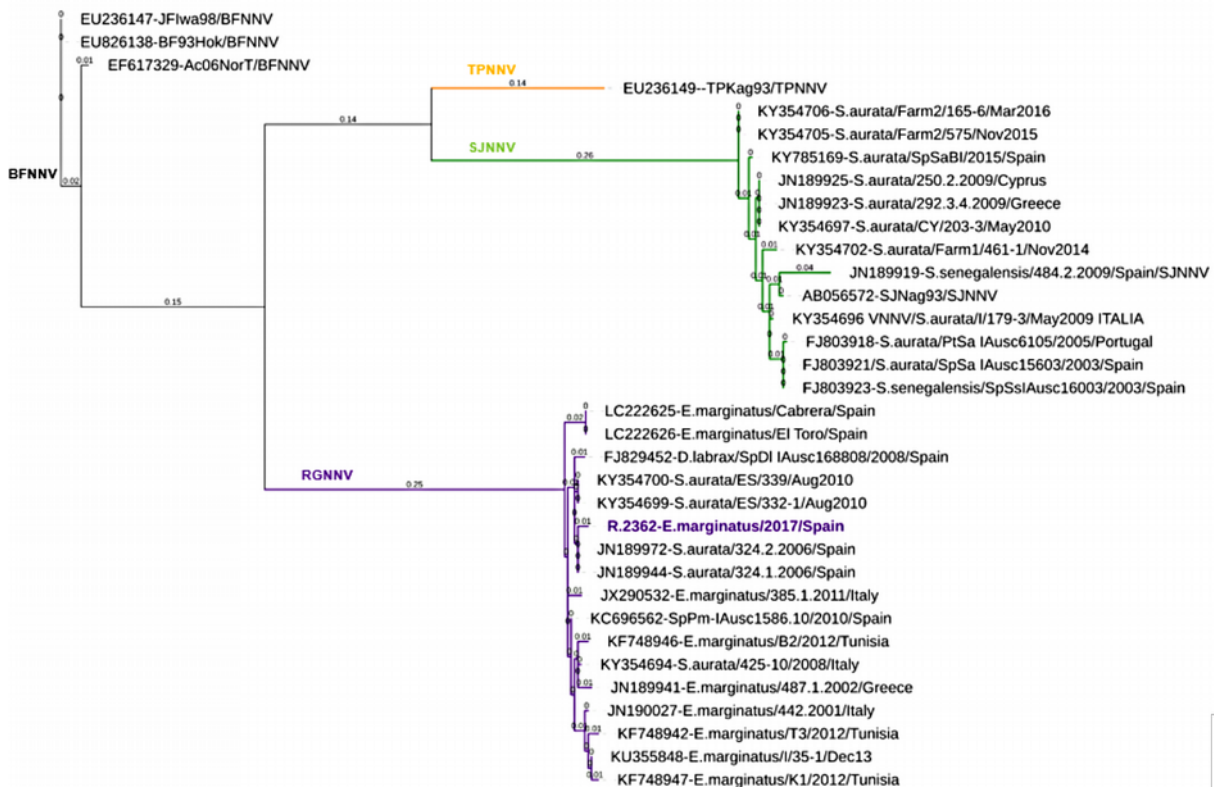
Los nodavirus afectan principalmente a ejemplares jóvenes, de hecho se han descrito mortalidades próximas al 100% en alevines, disminuyendo la mortalidad con la edad, sin embargo, en algunas especies, como en meros, se ha descrito una incidencia elevada en adultos (OIE, 2017). El ejemplar analizado era un individuo adulto joven de 3,7 kg de peso y 65 cm de longitud. Por tanto, el caso aquí descrito se ajusta a lo mencionado previamente en lo referente a la elevada sensibilidad de esta especie al virus, así como a la mayor incidencia en ejemplares adultos. Los ejemplares adultos pueden ser portadores asintomáticos y enfermar en situaciones de estrés.

La encefalopatía y retinopatía viral ha sido diagnosticada reiteradamente en granjas de acuicultura del sureste peninsular, normalmente a finales de verano y otoño, remitiendo cuando disminuye la temperatura del agua, lo cual también se ha observado en brotes en animales silvestres (Valencia *et al.* 2018). El genotipo descrito en las granjas de lubinas es el RGNNV (Vendramin *et al.* 2013). Este genotipo tiene una temperatura óptima de crecimiento de 25-30 °C (OIE 2017). En el caso que nos ocupa, el tipo de virus detectado fue también el RGNNV. El brote se ha comportado de forma similar a los brotes de las granjas de acuicultura, posiblemente en relación a la

Tree scale: 0.01



Tree scale: 0.01



**Figura 1.** Árboles filogenéticos. **A:** Filogenia basada en ARN1 (954 pb); **B:** Filogenia basada en ARN2 (570 pb). La cepa aislada en este estudio es la R.2362-E.marginatus/2017/Spain. Archivos TREE disponibles como material suplementario *on-line*: [ARN1](#) y [ARN2](#).

**Figure 1.** Phylogenetic trees. **A:** Phylogeny based on RNA1 (954 pb); **B:** Phylogeny based on RNA2 (570 pb). The isolate is R.2362-E.marginatus/2017/Spain. TREE files available on line: [ARN1](#) y [ARN2](#).

temperatura del agua: se ha iniciado a mediados del verano (primer caso descrito el 20 de agosto) y el último a principios de octubre (3 de octubre). La relación entre los brotes de nodavirus y el incremento de la temperatura del agua ha sido descrito previamente en otros episodios (Athanasopoulou *et al.* 2003, Haddad-Boubaker *et al.* 2014). La temperatura del agua en el área de la Reserva de Cabo de Palos e Islas Hormigas fue excepcionalmente elevada en el año 2017 (JM Ruiz, datos no publicados). Como se ha comentado, el genotipo RGNNV tiene un desarrollo óptimo a altas temperaturas, pero el propio estrés térmico puede producir sobre los peces un efecto de inmunosupresión que desencadene la enfermedad. Tal y como señalan Haddad-Boubaker *et al.* (2014), la combinación de ambos factores (incremento de la patogenicidad e inmunosupresión) derivados del aumento de temperatura del agua de mar puede provocar los brotes en especies muy sensibles como los meros.

Los resultados del análisis filogenético del presente caso indican que el virus detectado presentaba una mayor similitud con cepas víricas españolas procedentes de lubina (*D. labrax*) y dorada (*S. aurata*) cuya similitud es idéntica con las muestras (324.1.2006/Spain y 324.2.2006/Spain) que con las cepas víricas detectados en mero (*E. marginatus*) en distintos países de la cuenca mediterránea, Italia, Grecia, Túnez e incluso España. Ello permite concluir que el origen más probable de la infección fue la transmisión desde las granjas de acuicultura de dorada y lubina.

Las condiciones de cultivo intensivo de las granjas de acuicultura en mar abierto constituyen un foco multiplicador de infecciones. Las condiciones de hacinamiento y estrés provocan, en general para cualquier proceso infeccioso, situaciones muy favorables para contagio directo de unos peces a otros y por otro lado un descenso de inmunidad y de respuesta frente a las infecciones (Midtlyng *et al.* 2006). Las probabilidades de transmitir el virus a las poblaciones silvestres circundantes son muy elevadas, a través de las heces, por contacto a través de las redes o por los continuos escapes que se producen en estas instalaciones. Asumidos los niveles de positividad encontrados tanto en peces de acuicultura como en peces silvestres merodeadores de las piscifactorías y dadas las características de difusión y resistencia del virus en el medio, resulta altamente probable el contagio entre ambos lados de las redes de las

instalaciones de acuicultura (Peñalver *et al.* 2011). La liberación accidental de peces desde las granjas de acuicultura es un fenómeno habitual (Archavala-Gómez *et al.* 2015). Pueden ocurrir escapes masivos, por accidentes o por temporales, pero lo que es más habitual son los escapes continuos de pequeñas cantidades de ejemplares, pudiendo provocar la liberación de carga viral al medio ambiente. Estos peces pueden difundir la infección a zonas más alejadas tanto de forma directa como indirecta al ser depredados por otros peces o incluso por aves piscívoras.

La Región de Murcia es la primera productora a nivel nacional de lubina, con una producción en el año 2017 de 6990 toneladas, lo cual supone el 33 % del total nacional; mientras que para dorada es el segundo productor nacional, con 4350 (32%) (APROMAR, 2018). La producción se concentra en tres zonas: el polígono acuícola de San Pedro del Pinatar, el polígono acuícola de El Gorguel (Cartagena) y en Águilas. Peñalver *et al.* (2011) realizaron un seguimiento epidemiológico entre 2007 y 2009 hallando positivos en peces asintomáticos de granjas de acuicultura (0,28%), y en peces merodeadores de las granjas como jurel (*Trachurus* Rafinesque, 1810 spp.), boga (*Boops boops* (L., 1758)), alacha (*Sardinella aurita* Valenciennes, 1847), sargo (*Diplodus sargus* (L., 1758)) y mújol (Mugilidae), con un porcentaje global del 1,33 %. Resultados similares fueron encontrados por Cherif *et al.* (2017), quienes detectan nodavirus en 13 especies de peces merodeadores en granjas de Túnez. La presencia del virus en peces merodeadores implica un elevado riesgo de transmisión del virus de unas jaulas a otras, entre granjas y por el medio marino. En el estudio de Peñalver *et al.* (2011), dentro de los peces procedentes de ambientes ecológicos no directamente relacionados con las granjas de acuicultura, se hallaron dos positivos en corvina (*Sciaena umbra* L., 1758), especie esta que habita en ambientes rocosos, de forma similar a los meros.

La Reserva Marina de Cabo de Palos se encuentra relativamente alejada de los polígonos acuícolas de San Pedro del Pinatar (11 km) y del Gorguel (20 km), por lo que no cabe la posibilidad de una transmisión directa procedente de las granjas de acuicultura. La transmisión del virus horizontal y vertical, su persistencia en el medio marino y el gran número de especies sensibles provoca su tendencia a establecerse como endé-

mico (Bovo, 2004). Los meros no están ecológicamente relacionados con las granjas de acuicultura, por lo que el contagio se debe realizar de forma indirecta a partir de peces infectados. En el brote descrito por Haddad-Boubaker *et al.* (2014) en el norte de Túnez, las granjas de acuicultura más próximas estaban a más de 100 km, concluyendo que en el caso de que la infección proviniese de ellas sería a través de la red trófica. Todas las especies que han sido detectadas como positivos asintomáticos en especies silvestres merodeadoras de granjas de acuicultura (Peñalver *et al.* 2011; Cherif *et al.* 2017) son especies que también podemos encontrar en la Reserva Marina de Cabo de Palos (García-Charton *et al.* 2019), por lo que pueden ser el nexo de unión entre las granjas de acuicultura y las poblaciones de meros de Cabo de Palos.

En todos los años que se viene realizando seguimiento científico de la Reserva de Cabo de Palos (desde el año 1996), nunca se había detectado episodio de mortalidad de carácter infeccioso de ningún tipo de peces, y por supuesto tampoco en meros, cuyos cadáveres son muy evidentes y fácilmente identificables. Si bien, el seguimiento de espacios marinos no siempre es fácil, en el caso de la Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas cualquier anomalía del medio ambiente y de la fauna es rápidamente detectado por ser una zona con gran número de buceadores recreativos, actividad pesquera, deportes náuticos, mucha población que hace uso de las playas para pasear o baño y la continua actividad de los servicios oficiales de vigilancia de la reserva. Por tanto, se puede asumir que es la primera vez que ocurren estos episodios de mortalidad.

Procede extremar las condiciones sanitarias de las instalaciones de acuicultura: limitar al máximo la introducción en las instalaciones de alevines portadores de nodavirus, conseguir una adecuada cobertura vacunal y establecer procedimientos para evitar, en la medida de lo posible, los escapes de ejemplares desde las instalaciones acuícolas. Se deben extremar las medidas de bioseguridad generales de las instalaciones, y en especial una gestión eficaz de las bajas.

Además de estas medidas activas sanitarias en la acuicultura, se deben instaurar protocolos de actuación ante futuros brotes en peces de nodavirus en peces silvestres en general, pero de los meros de la Reserva de Cabo de Palos e Isla Hormigas en especial, por su elevada sensibilidad a

nodavirus y su gran valor ecológico. Estas medidas deben incluir procedimientos analíticos (protocolo de toma de muestras, material de muestreo, personal especializado y laboratorio) y medidas de gestión de brotes, incluido la retirada precoz de ejemplares enfermos y cadáveres para evitar en la medida de lo posible una mayor difusión del virus. Además, esta enfermedad debería incluirse en el listado de Enfermedades de Declaración Obligatoria.

## Referencias

- APROMAR. 2018. La Acuicultura en España 2018. Disponible en: <http://www.apromar.es/content/la-acuicultura-en-espana-2018> (accedido el 14-X-2019).
- Arechavala-López P, Valero-Rodríguez JM, Peñalver-García J, Izquierdo-Gómez D & Sánchez-Jerez P. 2015. Linking coastal aquaculture of meagre *Argyrosomus regius* and Western Mediterranean coastal fisheries through escapes incidents. *Fisheries Management and Ecology* 22 (4): 317-325. <https://doi.org/10.1111/fme.12129>
- Athanassopoulou F, Billinis C, Psychas V & Karipoglou K. 2003. Viral encephalopathy and retinopathy of *Dicentrarchus labrax* (L.) farmed in fresh water in Greece. *Journal of Fish Diseases* 26(6): 361-365. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00458.x>
- Barja JL. 2004. Report about fish viral diseases. En *Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories* (Alvarez-Pellitero P, Barja JL, Basurco B, Berthe F. & Toranzo AE, eds.). *Options méditerranéennes: Serie B. Etudes et Recherches* 49, pp. 91-102.
- Begossi A, Salivonchik SV, Barreto T, Nora V & Silvano RAM. 2012. Small-scale Fisheries and Conservation of Dusky Grouper (*Garoupa*, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) in the Southeastern Brazilian Coast. *Science Journal of Agricultural Research and Management* 174: 1-4. Disponible en <http://om.ciheam.org/om/pdf/b49/04600221.pdf>
- Bovo G. 2004. Viral diseases affecting mediterranean aquaculture. *Actas de "Diagnóstico y control de enfermedades de peces de acuicultura marina mediterránea"*. CIHEAM, Santiago de Compostela.
- Bovo G, Borghesan F, Mutinelli F, Montesi F & Comuzzi M. 1996. Viral encephalo-retinopathy of reared sea bass: first detection in Italy. *Bolletino Societa Italiana Patologia Ittica* 19: 52-64.
- Bovo G, Nishizawa T, Maltese C, Borghesan F, Mutinelli F, Montesi F & De Mas S. 1999. Viral encephalopathy and retinopathy of farmed marine fish species in Italy. *Virus Research* 63(1-2):143-146. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(99\)00068-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(99)00068-4)
- Bovo G, Gustinelli A, Quaglio F, Gobbo F, Panzarin V, Fusaro A, . . . Fioravanti ML. 2011. Viral encephalopathy and retinopathy outbreak in freshwater fish farmed in Italy. *Diseases of Aquatic Organisms* 96: 45-54. <https://doi.org/10.3354/dao02367>
- Cherif N, Thiery R, Castric J, Biacchesi S, Bremont M,



- Thabti F, . . . Hammani S. 2009. Viral encephalopathy and retinopathy of *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata* farmed in Tunisia. *Veterinary Research Communications* 33: 345-353. <https://doi.org/10.1007/s11259-008-9182-3>
- Chérif N & Amdouni F. 2017. Nodaviruses in wild fish population collected around aquaculture cage sites from coastal areas of Tunisia. *Fisheries and Aquaculture Journal* 8: 3 [6] <https://doi.org/10.4172/2150-3508.1000209>
- Ciulli S, Galletti E, Grodzki M, Alessi A, Battilani M & Proseri, S. 2007. Isolation and genetic characterization of Betanodavirus from wild marine fish from the Adriatic Sea. *Veterinary Research Communications*, 31 (Suppl. 1): 221-224. <https://doi.org/10.1007/s11259-007-0010-y>
- Condini MV, Seyboth E, Vieira JP & García AM. 2011. Diet and feeding strategy of the dusky grouper *Myceteroperca marginata* (Actinopterygii: Epinephelidae) in a man-made rocky habitat in southern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 9: 161-168. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011005000006>
- Condini MV, García-Charton JA & Miranda-García A. 2018. A review of the biology, ecology, behaviour and conservation status of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 28:301-330. <https://doi.org/10.1007/s11160-017-9502-1>
- García-Charton JA, Caló A, Cuadros-Casado A, Fuzio F, Haenández-Andreu R, Pereñíguez-López JM, . . . Pérez-Ruzafa A. 2017. Informe de Seguimiento de la Reserva de Cabo de Palos e Islas Hormigas de 2016. Informe producido por Convenio de Colaboración entre la Universidad de Murcia y la consejería de Agricultura y Agua de Murcia. Disponible en <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/89927> (accedido el 17-IV-2020).
- García-Charton JA, Barcala E, Cuadros-Casado A, Orenes V, Pereñíguez-López JM, Rojo-Moreno I, . . . Trujillo M. 2019. Informe de Seguimiento de las reserva marinas de Cabo de Palos e Islas Hormigas y Cabo Tiñoso de 2018. Informe producido por Convenio de Colaboración entre la Universidad de Murcia y la Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca. Disponible en <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/89950> (accedido el 17-IV-2020).
- Ghiasi M, Binaii M, Ghasemi M, Fazli H & Zorriehzahra MJ. 2016. Haemato-biochemical disorders associated with nodavirus like-agent in adult leaping mullet *Liza saliens* (Risso, 1810) in the Caspian Sea. *Virus Disease* 27:12-18 <https://doi.org/10.1007/s13337-015-0289-1>
- Gomez DK, Sato J, Mushiake K, Isshiki T, Okinaka Y & Nakai T. 2004. PCR-based detection of betanodaviruses from cultured and wild marine fish with no clinical signs. *Journal of Fish Diseases* 27: 603-608. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00577.x>
- Gomez DK, Matsuoka S, Mori K, Okinaka Y, Park SC & Nakai T. 2009. Genetic analysis and pathogenicity of betanodavirus isolated from wild redspotted grouper *Epinephelus akaara* with clinical signs. *Archives of Virology* 154:343-346. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0305-5>
- Haddad-Boubaker S, Boughdir W, Souissi JB, Megdich A, Dhaouadi R, Amara A, . . . & Fakhfakh E. 2014. Outbreak of Viral Nervous Necrosis in Endangered Fish species *Epinephelus costae* and *E. marginatus* in Northern Tunisian Coasts. *Fish Pathology* 49 (2): 53-56. <https://doi.org/10.3147/jsfp.49.53>
- Kara HM, Chaoui L, Derbal F, Zaidi R, Boisseson C, Baud M & Bigarré L. 2014. Betanodavirus-associated mortalities of adult wild groupers *Epinephelus marginatus* (Lowe) and *Epinephelus costae* (Steindachner) in Algeria. *Journal of Fish Diseases* 37: 273- 279. <https://doi.org/10.1111/jfd.12020>
- Maltese C, Antonetti P, Quartesan R, Ormelli S, Borghesan F, Manfrin A, . . . Bovo G. 2005. Isolation of viral encephalopathy and retinopathy virus (VERV) from wild marine fish species in the Mediterranean Sea. En *Proceeding of the Twelfth International Conference Diseases of Fish and Shellfish, European Association of Fish Pathologists*, 11-16 September 2005; Copenhagen. Edited by The European Association of Fish Pathologists. Aberdeen: Albion Press, pp. 8-19.
- María-Dolores E & Bermúdez L. 1997. La Reserva Marina de Cabo de Palos e Islas Hormigas. Disponible en [www.reservasmarinas.net/divulgacion/eventos/pdf/palos.pdf](http://www.reservasmarinas.net/divulgacion/eventos/pdf/palos.pdf).
- Marino G & Azzurro E. 2001. Nodavirus in dusky grouper *Epinephelus marginatus*, (Lowe 1834) of the Natural Marine Reserve of Ustica, South Tyrrhenian Sea. *Biologia Marina Mediterranea* 8: 837-841.
- Midtlyng PJ, Raynard R, Wahli T, Vatsos I, Mortensen S, De Blas I, . . . Miossec L. 1996. A European review of disease interactions and pathogen exchange between farmed and wild aquatic animal (DIPNET project, European Commission). Oslo, Norway: VESO.
- Munday BL & Nakai T. 1997. Special topic review: nodaviruses as pathogens in larval and juvenile marine finfish. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 13: 375-381.
- Munday BL, Kwang J & Moody N. 2002. Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *Journal of Fish Diseases* 25: 127-142. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00350.x>
- OIE (Organización Internacional de Epizootias). Manual de pruebas diagnósticas para animales acuáticos. 2017. Disponible en <https://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-acuatico/acceso-en-linea> (accedido el 14-X-2019).
- Panzanin V, Patarnello P, Mori A, Rampazzo E, Cappelozza E, Bovo G & Cattoli G. 2010. Development and validation of a real-time TaqMan PCR assay for the detection of Betanodavirus in clinical specimens. *Archives Virology* 155:1193-1203. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0701-5>
- Panzarin V, Fusaro A, Monne I, Cappelozza E, Patarnello PP, Capua I, Holmes CH & Cattoli G. 2012. Molecular epidemiology and evolutionary dynamics of betanodavirus in southern Europe. *Infection, Genetics and Evolution* 12:63-70. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.10.007>
- Peñalver J, Real F & Areoso EJ. 2011. Caracterización y estandarización de condiciones de sanidad animal

- en acuicultura marina: creación de mapas epidemiológicos y elaboración de estrategias para el diseño de una red de vigilancia epidemiológica. Disponible en [http://www.magrama.gob.es/app/jacumar/planes\\_nacionales/Documentos/100\\_IF\\_GESAC\\_EPIDEMIOLOGIA.pdf](http://www.magrama.gob.es/app/jacumar/planes_nacionales/Documentos/100_IF_GESAC_EPIDEMIOLOGIA.pdf) (accedido el 14-X-2019).
- Skliris GP, Krondiris JV, Sideris DC, Shinn AP, Starkey WG & Richard RH. 2001. Phylogenetic and antigenic characterization of new fish nodavirus isolates from Europe and Asia. *Virus Research* 75:59-67 [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(01\)00225-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(01)00225-8)
- Toffan A, Pascoli F, Pretto T, Panzarin V, Abbadi M, Buratin A, . . . Padrós F. 2017. Viral nervous necrosis in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) caused by re-sortant betanodavirus RGNNV/SJNNV: an emerging threat for Mediterranean aquaculture. *Scientific Report* 7: 46755 [12] <https://dx.doi.org/10.1038/Fsrep46755>
- Ucko M, Colorni A & Diamant A. 2004. Nodavirus infections in Israeli mariculture. *Journal of Fish Diseases* 27(8): 459-69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00565.x>
- Valencia JM, Grau A, Box A, Núñez-Reyes V, Cohen-Sánchez A & Catanese G. 2018. First detection of nodavirus as an etiological agent of MME of morays (*Muraena helena*) in Ibiza and Formentera. En VII Jornades de Medi Ambient de les Illes Balears (Pons GX, del Valle L, Vicens D, Pinya S, McMinn M & Pomar F, eds). Palma: Societat d'Història Natural de les Balears, pp. 172-175.
- Valencia JM, Grau A, Pretto T, Pons J, Jurado-Rivera JA, Castros JA, Toffan A & Catanese G. 2019. Viral encephalopathy and retinopathy (VER) disease in *Epinephelus marginatus* from the Balearic Islands marine protected areas. *Diseases of Aquatic Organisms* 135: 49-58. <https://doi.org/10.3354/dao03378>
- Vendramin N, Patarnello P, Toffan A, Panzarin V, Cappellozza E, Tedesco P, . . . Cattoli G. 2013. Viral encephalopathy and retinopathy in groupers (*Epinephelus* spp.) in southern Italy: a threat for wild endangered species? *BMC Veterinary Research*, 9:20 [7]. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-20>
- Yong CY, Yeap SK, Omar AR & Tan WS. 2017. Advances in the study of nodavirus. *PeerJ*. Sep 27; 5: e3841 [32]. <https://doi.org/10.7717/peerj.3841>.
- Zarza C. & Padrós F. 2007. Enfermedades emergentes en la piscicultura marina española. *Skretting Informa* 12: 23-31.