



UNIVERSIDAD DE MURCIA

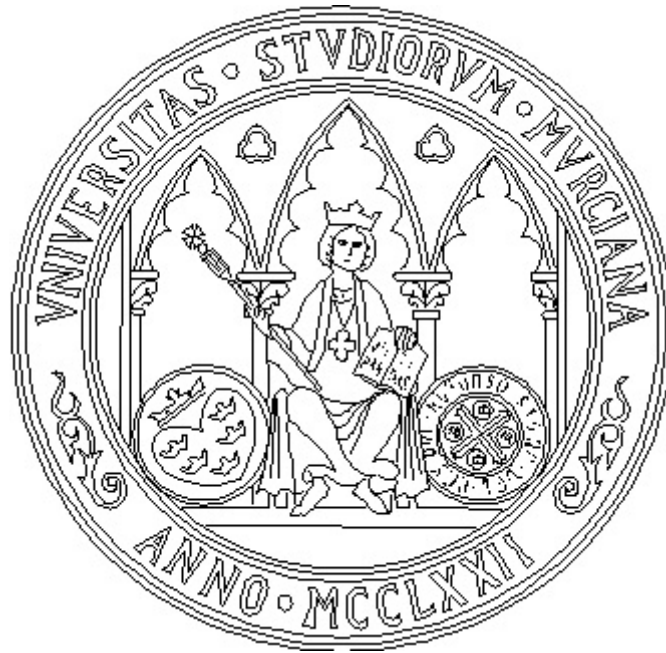
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de
los odontocetos

D. Álvaro García de los Ríos y Loshuertos

2023



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de
los odontocetos

Autor: D. Álvaro García de los Ríos y Loshuertos

Directores: D. Gregorio Ramírez Zarzosa, D. Alberto
Arencibia Espinosa y D^a Marta Soler Laguía



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA EN MODALIDAD DE COMPENDIO O ARTÍCULOS PARA
OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Nombre y apellidos doctorando/a ALVARO G. DE LOS RIOS Y LOSHUERTOS
doctorando del Programa de Doctorado en

Denominación del programa de doctorado Ciencias Veterinarias

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Título de la tesis doctoral ESTUDIO ANATOMICO DEL DESARROLLO
DE LA REGION CEFALICA DE LOS
ODONTOCETOS

y dirigida por,

D./Dña. GREGORIO RAMIREZ ZARZOSA

D./Dña. ALBERTO ARENCIBIA ESPINOSA

D./Dña. MARTA SOLER LAQUIA

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Además, al haber sido autorizada como compendio de publicaciones o, tal y como prevé el artículo 29.8 del reglamento, cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 15 de Enero de 2023

Fdo.:

ALVARO G. DE LOS RIOS Y LOSHUERTOS

TESIS DOCTORAL COMO COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1. Álvaro García de los Ríos y Loshuertos, Alberto Arencibia Espinosa, Marta Soler Laguía, Francisco Gil Cano, Francisco Martínez Gomariz, Alfredo López Fernández and Gregorio Ramírez Zarzosa. A study of the head during prenatal and perinatal development of two fetuses and one newborn Striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*, Meyen 1833) using dissections, sectional anatomy, CT and MRI: Anatomical and functional implications in cetaceans and terrestrial mammals. *Animals* 2019, 9, 1139; doi:10.3390/ani9121139
2. Álvaro García de los Ríos y Loshuertos, Marta Soler Laguía, Alberto Arencibia Espinosa, Alfredo López Fernández, Pablo Covelo Figueiredo, Francisco Martínez Gomariz, Cayetano Sánchez Collado, Nuria García Carrillo and Gregorio Ramírez Zarzosa. Comparative anatomy of the nasal cavity in the Common dolphin *Delphinus delphis* L., Striped dolphin *Stenella coeruleoalba* M. and Pilot whale *Globicephala melas* T.: A developmental study. *Animals* 2021, 11, 441. <https://doi.org/10.3390/ani11020441>
3. Álvaro García de los Ríos y Loshuertos, Marta Soler Laguía, Alberto Arencibia Espinosa, Francisco Martínez Gomariz, Cayetano Sánchez Collado, Alfredo López Fernández, Francisco Gil Cano, Juan Seva Alcaraz and, Gregorio Ramírez Zarzosa. Endoscopic study of the oral and pharyngeal cavities in the Common dolphin, Striped dolphin, Risso's dolphin, Harbour porpoise and Pilot whale: Reinforced with other diagnostic and anatomic techniques. *Animals* 2021, 11, 1507. <https://doi.org/10/10.3390/ani11061507>



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Gregorio Ramírez Zarzosa, Catedrático de Universidad del Área de Anatomía y Embriología en el Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de los odontocetos“, realizada por Álvaro García de los Ríos y LosHuertos, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

GREGORIO
JOSE|RAMIREZ|
ZARZOSA

Firmado digitalmente por
GREGORIO JOSE|RAMIREZ|
ZARZOSA
Fecha: 2022.07.05 13:24:45
+02'00'

En Murcia, a 5 de Julio de 2022



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Alberto Arencibia Espinosa, Catedrático de Universidad del Área de Anatomía en el Departamento de Morfología de las Palmas de Gran Canaria, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de los odontocetos", realizada por Álvaro García de los Ríos y LosHuertos, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 6 de Julio de 2022

ARENCEBIA
ESPINOSA ALBERTO
- 42812417X

Firmado digitalmente por
ARENCEBIA ESPINOSA ALBERTO
- 42812417X
Fecha: 2022.07.06 07:52:55
+01'00'



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

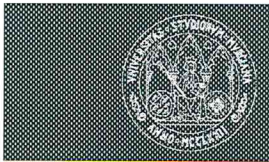
Marta Soler Laguía, Profesora Titular de Universidad del Área de Medicina y Cirugía Animal en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de los odontocetos", realizada por Álvaro García de los Ríos y LosHuertos, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 5 de julio de 2022

**SOLER
LAGUIA
MARTA -
34804905V**

Firmado
digitalmente por
SOLER LAGUIA
MARTA - 34804905V
Fecha: 2022.07.06
10:03:35 +02'00'



**INFORME DE EXPERTO DOCTOR PERTENECIENTE A UNA INSTITUCIÓN DE
EDUCACIÓN SUPERIOR O INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN NO ESPAÑOL
PARA OPTAR A MENCIÓN DE «DOCTORADO INTERNACIONAL»**

EXTERNAL REVIEWER'S REPORT FOR

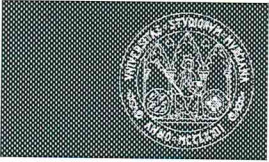
THE "INTERNATIONAL DOCTORATE" MENTION

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL / DOCTORAL THESIS DETAILS

Nombre y apellidos del doctorando / PhD student's name and surname(s): Álvaro García de los Ríos y LosHuertos
Centro de origen / Institution of origin: Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Murcia / International School of Doctoral Studies
Programa de Doctorado / Doctoral Programme: Ciencias Veterinarias/ Veterinary Sciences
Título de la tesis / Thesis title: Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de los odontocetos/ Anatomical study of the development of the cephalic region of Odontocetes

DATOS DEL EXPERTO QUE EMITE EL INFORME / EXTERNAL REVIEWER'S DETAILS

Nombre y apellidos / First name and family name: Ingmar Sosa Cornejo
D.N.I./Pasaporte / I.D./Passport number: G37778240
E-mail: parlama_michin@uas.edu.mx
Doctor por la Universidad de / PhD institution: Universidad Autónoma de Sinaloa
Año de defensa de la tesis doctoral / PhD date: 28 de enero 2022
Institución/ Instituto de Investigación a la que pertenece / Current affiliation: Facultad d Biología
Departamento/Centro / Department/Centre: Laboratorio de Zoología, Cuerpo Académico de Ecología Molecular y Biotecnología
País / Country: México



**INFORME RAZONADO SOBRE LA IDONEIDAD DE LA TESIS AL EFECTO DE
ACCEDER AL GRADO DE DOCTOR: / EXTERNAL REVIEWER'S ASSESSMENT OF THE
THESIS' QUALITY**

- 1.1. Especificar los motivos que avalan la calidad de la tesis antes indicada al objeto de acceder al grado académico de doctor (objetivos, originalidad del trabajo, metodología, antecedentes y bibliografía, resultados, etc.) (Adjunte cuantas hojas adicionales estime oportuno)

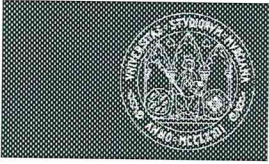
Specify reasons for endorsing the quality of the above-mentioned thesis in order to obtain the PhD award (objectives, originality of the research conducted, framing in the relevant literature, methodology, results, ...) (Please add as many additional pages as necessary)

Recomiendo la tesis doctoral, primero por el hecho que los productos del trabajo fueron tres publicaciones científicas en revistas con un factor de impacto superior a 2.5 la hace meritoria.

Como segundo punto con base a la estructura de la tesis, menciono lo siguiente: Los objetivos son claros y concuerdan con las metodologías que se plantearon para darle cumplimiento a dichos objetivos. En lo referente al número de muestras, el hecho de trabajar con cetáceos hace complicado tener una muestra grande y de calidad; sin embargo, el postulante de la tesis desde mi punto de vista, tiene las suficientes muestras de varias especies en diferentes estadios de desarrollo, dándole una calidad a su "n", el cual ayudó en realizar una mejor descripción de la anatomía y funcionamientos de dichas estructuras de los cetáceos con la ayuda de tecnologías para generar más información sobre el control prenatal y perinatal principalmente.

Respecto a la originalidad, el aporte que se hace sobre la aplicación de nuevas tecnologías como TC y RM de acuerdo al corte y estadio de desarrollo, así como, la reconstrucción de los cráneos en 3d, contribuyen en una mejor interpretación anatómica, de posibles patologías, así como, taxonómica, por lo cual se está generando información de carácter científico en las áreas de *Veterinaria y Biología del Desarrollo*.

Los resultados son interesantes y las gráficas e imágenes son claras y se explican con detalle, además de realizar comparaciones entre especies.



Los antecedentes que fortalecen la tesis revelan la importancia del aporte al uso de estas nuevas tecnologías, sin embargo, hace falta referencias más actualizadas, pero al ser algo relativamente novedoso, se cuenta con poca información actualizada; además, que la mayor parte de la información científica que se genera en los cetáceos se enfoca en promedio más a la ecología de poblaciones, conservación. Por lo cual es difícil contar con información reciente sobre esta área del conocimiento aplicado a cetáceos.

- 1.2. Valoración absoluta y/o ponderada de la tesis presentada en comparación con otros trabajos de investigación en su campo de conocimiento / Overall and/or balanced assessment of the thesis in comparison with other research studies in the same disciplinary domain:

Es de mucha importancia el aporte de uso de técnicas novedosas que ayudan a mejorar la descripción anatómica, fisiológica en diferentes estadios de desarrollo.

- 1.3. ¿Considera usted que la tesis doctoral es apta para su defensa pública? / Do you consider the work submitted is ready for the PhD viva?

SI/YES

NO/NO

- 1.4. Comentarios, observaciones u otras sugerencias para la mejora del trabajo / Comments, observations and suggestions intended to improve this thesis:

El trabajo es interesante en áreas de la veterinaria principalmente y biología del desarrollo; sin embargo, recomiendo justificar detalladamente más el trabajo para que se vea el gran aporte de información que puede obtener para otras áreas del conocimiento como son: la biología, ecología, manejo de vida silvestre entre otras. Y sugiero con la información ya obtenida realizar análisis estadísticos para darle un aporte numerico a los resultados obtenidos.

En Culiacán, Sianloa, México a 8 de junio de 2022 / Place and date

Firmado/Signed*. Dr.: Ingmar Sosa Cornejo

(* Se deben firmar todas las hojas del informe/ All pages of this report ought to be signed



INFORME DE EXPERTO DOCTOR PERTENECIENTE A UNA INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR O INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN NO ESPAÑOL PARA OPTAR A MENCIÓN DE «DOCTORADO INTERNACIONAL»
EXTERNAL REVIEWER'S REPORT FOR THE "INTERNATIONAL DOCTORATE" MENTION

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL / DOCTORAL THESIS DETAILS

Nombre y apellidos del doctorando / PhD student's name and surname(s): Álvaro García de los Ríos y LosHuertos
Centro de origen / Institution of origin: Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Murcia / International School of Doctoral Studies
Programa de Doctorado / Doctoral Programme: Ciencias Veterinarias/ Veterinary Sciences
Título de la tesis / Thesis title: Estudio anatómico del desarrollo de la región cefálica de los odontocetos/ Anatomical study of the development of the cephalic region of Odontocetes

DATOS DEL EXPERTO QUE EMITE EL INFORME / EXTERNAL REVIEWER'S DETAILS

Nombre y apellidos / First name and family name: Bruno Cozzi
D.N.I./Pasaporte / I.D./Passport number: YA4537442, Italy [released on March 11, 2013; expires March 10, 2023]
E-mail: bruno.cozzi@unipd.it
Doctor por la Universidad de / PhD institution: Dr. Med. Vet.: Milan, Italy, 1980 PhD (Health Sciences): University of Copenhagen, Denmark, 1993
Año de defensa de la tesis doctoral / PhD date: 1993
Institución/ Instituto de Investigación a la que pertenece / Current affiliation: University of Padova (Università degli Studi di Padova), Padova
Departamento/Centro / Department/Centre: Biomedicina Comparata e Alimentazione (Comparative Biomedicine and Food Science)
País / Country: ITALY



Firmato digitalmente da:
Cozzi Bruno
Firmato il 07/06/2022 12:57
Seriale Certificato: 14769044
Valido dal 17/09/2019 al 17/09/2022
InfoCert Firma Qualificata 2



1. INFORME RAZONADO SOBRE LA IDONEIDAD DE LA TESIS AL EFECTO DE ACCEDER AL GRADO DE DOCTOR: / EXTERNAL REVIEWER'S ASSESSMENT OF THE THESIS' QUALITY

- 1.1. Especificar los motivos que avalan la calidad de la tesis antes indicada al objeto de acceder al grado académico de doctor (objetivos, originalidad del trabajo, metodología, antecedentes y bibliografía, resultados, etc.) (Adjunte cuantas hojas adicionales estime oportuno)
Specify reasons for endorsing the quality of the above-mentioned thesis in order to obtain the PhD award (objectives, originality of the research conducted, framing in the relevant literature, methodology, results, ...) (Please add as many additional pages as necessary)

The thesis written by Álvaro García de los Ríos y LosHuertos is the sum of a very accurate series of studies on the anatomy of the head and nasal apparatus of fetal and young specimens of cetaceans belonging to the family Delphinidae. The material examined by the candidate is impressive, his dissections and image analyses detailed and complete. The relevant literature has been cited, some of the personal observations made are original and pertinent. The conclusions are adequate with some innovative interpretations. I emphasize that the results of the research were published in a well-known peer-reviewed journal.

- 1.2. Valoración absoluta y/o ponderada de la tesis presentada en comparación con otros trabajos de investigación en su campo de conocimiento / Overall and/or balanced assessment of the thesis in comparison with other research studies in the same disciplinary domain:

The thesis written by Álvaro García de los Ríos y LosHuertos deals with a fascinating subject, connected to the evolution of marine mammals and the modifications induced in their breathing apparatus by life in the water. The significance of the complex anatomical mechanisms that ensure air exchange and production of sound have been thoroughly examined, compared with what published in the current literature and presented in a detailed and rather elegant form. In my opinion there are few comparable studies, and I strongly encourage the Candidate to further pursue this venue of research.

- 1.3. ¿Considera usted que la tesis doctoral es apta para su defensa pública? / Do you consider the work submitted is ready for the PhD viva?

yes SI/YES

NO/NO

- 1.4. Comentarios, observaciones u otras sugerencias para la mejora del trabajo / Comments, observations and suggestions intended to improve this thesis:

I have no specific suggestions for the Candidate. Given the opportunity, I would encourage him to further study the innervation of the nasal structures. It would be interesting to follow the path of some cranial nerves essential for the regulation of the functionality of the blowhole. In particular, the role of the facial nerve, and the rather puzzling nature of the terminal nerve, may have a relevant bearing on vocal production and detection of external environmental pressure. However, these are long- time goals that require years of dedication and post-doctoral study.

Padova, June 6, 2022

Firmado/Signed*. Dr.:

(*) Se deben firmar todas las hojas del informe/ All pages of the report must be signed



Firmato digitalmente da:

Cozzi Bruno

Firmato il 07/06/2022 12:56

Serie Certificato: 14769044

Valido da 17/09/2019 at 17/09/2022

InfoCert Firma Qualificata 2



UCD School of Veterinary Medicine Scoil Leighis Tréidliachta UCD

UCD Veterinary Sciences Centre,
University College Dublin,
Belfield, Dublin 4, Ireland

Ionad Eolaíocht Tréidliachta UCD,
An Coláiste Ollscoile, Baile Átha Cliath,
Belfield, Baile Átha Cliath 4, Éire

T +353 1 716 6100
F +353 1 716 6104

vetprogrammes@ucd.ie
www.ucd.ie/vetmed

Dublin, December 7th 2017

The present document is to confirm that the Post grade ERASMUS Student Alvaro García de los Rios y Loshuertos, with DNI 45086789 spent from September 4th to December 5th in our department working with satisfactory results in the following topics:

- Coordinating bibliography review with our 1st grade students.
- Undertaking group team meetings and research with the rest of our staff.
- Compiling samples around Ireland from other scientifics working with marine mammals.
- Other research and studying tasks in our library.

David Kilroy

Tutor

“Los animales salvajes intentan ocultarnos sus patologías por puro instinto de supervivencia: pero sus huesos, sus vísceras...esos siempre dicen la verdad”

Dedicado a mi madre: ella siempre me inspiró, me motivó, me escuchó, me aconsejó...y lo más importante; me enseñó entender la vida.

Te quiero Nana África.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, mis mejores compañeros de viaje. Gracias por acompañarme a los Congresos de Cetáceos y Tortugas Marinas por todo el mundo. Y por permitir que desde chico os llenará la casa de huesos y otros restos animales.

A mi hijo Fionn, porque en estos siete años de tu corta vida me has dado las mayores alegrías y has hecho que todo sea más fácil y llevadero. Mo ghra thu.

A CEMMA, y en especial a Alfredo López Fernández, por proporcionarnos los fetos de cetáceos que dieron el impulso definitivo a la tesis.

A mis compañeros del Oceanográfico de Valencia y del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de Murcia.

A los profesores y técnicos de laboratorio de las Facultades de Veterinaria de Dublín, Las Palmas de Gran Canaria y Murcia, en especial a David, Francis, María Dolores, Cayetano, Paco, Rafa y Octavio, por hacerme sentir como en casa.

A mi compañero Daniel Rojo Ríos, mis directores Alberto Arencibia Espinosa, Marta Soler Laguía y sobretodo a mi tutor y director Gregorio Ramírez, pues conectamos desde el primer día y nos complementarnos pasando de ser profesor y alumno, a convertirnos en grandes amigos para toda la vida.

¡Is Brea liom tu!

ÍNDICE

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.	1
II. OBJETIVOS.	5
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	9
III.1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA NARIZ Y CAVIDAD NASAL.	9
III.1.1. NARIZ EXTERNA.	9
III.1.2. CAVIDAD NASAL.	9
III.1.1.1. VESTÍBULO.	10
III.1.1.2. PORCIONES OLFATORIA Y RESPIRATORIA.	10
III.2. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA CAVIDAD BUCOFARÍNGEA.	10
III.3. CAVIDAD BUCAL.	10
III.3.1. <i>Vestíbulo</i>	10
III.3.2. <i>Cavidad propia de la boca</i>	10
III.4. CAVIDAD FARÍNGEA.	11
III.4.1. OROFARINGE.	11
III.4.2. NASOFARINGE.	11
III.4.3. LARINGOFARINGE.	11
III.5. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE OTRAS ESTRUCTURAS CRANEALES.	12
III.5.1. MELÓN.	12
III.5.2. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.	12
III.5.3. OÍDO.	12
III.5.4. OJO.	13
III.6. ESTUDIO ENDOSCÓPICO.	14
III.7. ESTUDIOS REALIZADOS CON TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN.	14
III.7.1. RESONANCIA MAGNÉTICA.	14
III.7.2. TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA.	14
III.7.3. ECOGRAFÍA.	14
III.8. ESTUDIOS ANATÓMICOS.	14
III.9. ESTUDIOS HISTOLÓGICOS.	15
IV. RELACIÓN DE ARTÍCULOS.	19
IV.1. ARTÍCULO 1.	21
IV.2. ARTÍCULO 2.	23
IV.3. ARTÍCULO 3.	25
V. CONCLUSIONES.	29
Artículo 1.	29
Artículo 2.	30
Artículo 3.	31
VI. RESUMEN GENERAL.	35
VI.1. INTRODUCCIÓN.	35
VI.2. OBJETIVOS.	35
VI.3. MATERIAL Y MÉTODOS.	36
Artículo 1.	38
Artículo 2.	39
Artículo 3.	41
VI.4. RESULTADOS.	43
Artículo 1.	43
VI.5. DISCUSIÓN.	45
Artículo 1.	45
VI.6. RESULTADOS.	49
Artículo 2.	49
VI.7. DISCUSIÓN.	55
Artículo 2.	55

VI.8. RESULTADOS.....	58
Artículo 3.....	58
VI.9. DISCUSIÓN.....	64
Artículo 3.....	64
VI.10. CONCLUSIONES.....	68
VII. EXTENDED SUMMARY.....	73
VII.1. INTRODUCTION.....	73
VII.2. OBJECTIVES.....	74
VII.3. MATERIALS AND METHODS.....	75
Article 1.....	75
Article 2.....	76
Article 3.....	77
VII.4. RESULTS.....	78
Artículo 1.....	78
VII.5. RESULTS.....	81
Artículo 2.....	81
VII.6. RESULTS.....	87
Artículo 3.....	87
VII.7. DISCUSSION.....	92
Article 1.....	92
VII.8. DISCUSSION.....	95
Article 2.....	95
VII.9. DISCUSSION.....	98
Article 3.....	98
VII.10. CONCLUSIONS.....	101
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	107
IX. APÉNDICE.....	121

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Los primeros estudios específicos de la anatomía en cetáceos tuvieron lugar en el siglo XIX (Pouchet y Beauregard, 1885; Carte and Macalister, 1868; Collet, 1886; Pilliet y Boulart, 1895), exhaustivos trabajos pioneros con amplias y certeras ilustraciones. Más tardíos aún, ya metidos en el siglo XX, vinieron los estudios embriológicos (Schulte, 1916; Ridewood, 1922; Eales, 1950) que profundizaron en el desarrollo de los cetáceos, que años más tarde se completarían poniendo el foco en aspectos evolutivos (Numella et al., 2007; Thewissen y Cooper, 2009). Los estudios de embriología mejoraron con la aparición de los parques oceánicos, en los cuales se podía controlar y monitorizar a las hembras durante toda la gestación e incluso en el momento del parto. También ha contribuido al estudio del desarrollo de los odontocetos y misticetos la mejora de las tecnologías de filmación subacuáticas, además del nacimiento y auge de las redes de varamientos con cada vez más esfuerzos realizados en las costas de la mayoría de los países.

Muchos estudios sobre el desarrollo de los cetáceos emplean especímenes procedentes de colecciones museísticas (Schenkan, 1973; Thewissen et al., 2006; Huggenberger et al., 2009) en orden de mas antiguo a menos) que conservan los embriones y fetos procedentes de campañas de investigación llevadas a cabo durante el siglo XIX y principios del XX, y en tiempos más modernos encontrados por las redes de varamientos, que bien reciben avisos ó realizan actividades de rastreo activo de playas.

Con las muestras disponibles, se llegaron a conocer datos relativos al periodo de gestación, tamaño al nacimiento, curvas de crecimiento (Lacave et al., 2004; Danil y Chivers, 2007; McFee, 2009), etc., y a las características morfológicas externas como la presencia de pelos táctiles y pliegues uterinos (Berta et al., 2015) entre otras.

Pero sin ninguna duda, lo que más ha contribuido al conocimiento detallado de la

anatomía interna durante las diferentes fases del desarrollo embrionario y fetal ha sido el avance de la tecnología en cuanto al diagnóstico de imagen se refiere, con lo que éstos cambios anatómicos serían imposibles de mostrar sin el uso de la endoscopia, la tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética (RM), complementados por el empleo de la histología y diferentes herramientas anatómicas (disección, anatomía seccional, corrosiones, moldes anatómicos y plastinación). Estas técnicas han permitido resaltar, durante el periodo ontogénico y el desarrollo postnatal, diferentes modificaciones anatómicas en las cavidades corporales (Sterba et al., 2000; Thewisen y Heyning, 2007; Reidenberg y Laitman, 2009; Cozzi et al., 2017), sobre todo a nivel craneal, desde la osificación de los huesos del cráneo y a la formación de la cavidad nasal, pasando por la aparición y erupción de los dientes en la cavidad bucal, hasta la osificación del oído medio e interno (Liste et al., 2006; Rauschman et al., 2006).

El objetivo de esta Tesis Doctoral, es realizar un estudio descriptivo del desarrollo de la cabeza, en general, y posteriormente de las cavidades bucal, faríngea y nasal en particular. Esto queda plasmado en los tres artículos realizados en el periodo fetal en delfines, el primero de los cuales aborda el desarrollo de todas las estructuras anatómicas de la cabeza mediante anatomía seccional, TC y RM en dos fetos y un recién nacido. En los dos posteriores con un gran número de ejemplares y varias especies se aborda el estudio de las cavidades nasal, bucal y faríngea empleando además de las otras técnicas de imagen, la endoscopia y técnicas anatómicas e histológicas. En un futuro, se pretende continuar y abordar la cavidad encefálica y el desarrollo de los huesos del cráneo, el ojo, el oído, la musculatura y caudalmente las cavidades torácica, abdominal y pelviana, utilizando endoscopia, TC, RM, así como diferentes técnicas anatómicas e histológicas.

Confiamos en que éstas novedosas técnicas sirvan de aplicación en cualquier estudio de éste tipo que se lleve a cabo a partir de ahora, ya sea con muestras ya existentes o con los nuevos ejemplares que varen en lo sucesivo, para que la muerte de una hembra preñada no sea en vano y se pueda obtener el máximo de información posible en beneficio de todos aquellos veterinarios que trabajen en los parques oceánicos, centros de recuperación y redes de varamientos, que redunde en la conservación de éstos maravillosos animales.

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

Al llevar a cabo la presente Tesis Doctoral sobre el desarrollo fetal en odontocetos se planteó emplear novedosas técnicas anatómicas, de diagnóstico por imagen y la endoscopia con los siguientes objetivos:

1. Obtener imágenes secuenciadas de Resonancia Magnética y Tomografía Computarizada de la cabeza para correlacionarlas con secciones anatómicas.
2. Aplicar la técnica de endoscopia a nivel de las cavidades nasal, bucal y faríngea para estudiar la mucosa de estructuras anatómicas “in situ”.
3. Revisar términos anatómicos mal descritos en la literatura científica y nombrarlos acorde a la Nomenclatura Anatómica Veterinaria.
4. Añadir disecciones y reconstrucciones tridimensionales.
5. Realizar estudios de anatomía comparada entre cetáceos (odontocetos y mysticetos) y con mamíferos terrestres.
6. Establecer unas bases anatómicas que sirvan como referencia a futuros estudios de este tipo y a profesionales que trabajen con cetáceos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

III.1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA NARIZ Y CAVIDAD NASAL

Las estructuras de la cavidad o pasaje nasal durante el desarrollo fetal pueden ser divididas en: estructuras mediales que conforman el septo nasal, estructuras anteriores al pasaje nasal, estructuras posteriores al pasaje nasal y pasaje nasal propiamente dicho (Berta et al., 2004). Las técnicas usadas para estudiar el pasaje nasal empezaron por la disección y siguieron con la RM (Dormer, 1979; Green et al., 1980), y más recientemente se ha usado la endoscopia (Van Bonn et al., 1997; Dover and Van Bonn, 2001).

III.1.1. NARIZ EXTERNA

Tal y como nos muestra la nomenclatura Veterinaria (Schaller, 1992), la nariz externa en mamíferos es parte de la cara rostralmente a la región frontal y dorsalmente a las regiones infraorbitaria y bucal.

III.1.2. CAVIDAD NASAL

Compuesta de una sola narina, la posición de la cavidad nasal ha venido condicionada por la “telescopización” (Roston and Roth, 2019), tiene una morfología única en el cachalote (Schenkkan and Purves, 1973; Raven and Gregory, 1993) y puede ser dividida en:

III.1.1.1. VESTÍBULO

Al igual que la narina es única, aunque si tiene divertículos a ambos lados (Mead, 1975). Además, está dotado de pliegues vestibulares. Si bien en especies como el delfín listado (*Stenella coeruleoalba*) y el calderón común (*Globicephala melas*) es una estructura relativamente sencilla, en el delfín mular (*Tursiops truncatus*) es bastante más compleja (Green et al., 1980; Houser et al., 2004). Asimismo, en los cetáceos existe una estructura anatómica denominada labios de mono, ya descritos por Pouchet y Bouregard (1885) y más tarde por Lawrence y Shevill (1956) y que, como su nombre indica, desempeña un papel en la “bioacústica” (Crandford et al., 2011).

III.1.1.2. PORCIONES OLFATORIA Y RESPIRATORIA

Ambas se encuentran casi atrofiadas por la ausencia de conchas o cornetes nasales y los maxiloturbinados son casi vestigiales (Cave, 1988a y 1988b; Klima, 1999), habiendo diferencias entre odontocetos y misticetos (Klima, 1999).

III.2. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LA CAVIDAD BUCOFARÍNGEA

Aquí, a parte de la endoscopia y la RM, se ha utilizado la histología para tener información precisa de epitelios, vasos y glándulas (Sokolov y Volkova, 1973).

III.3. CAVIDAD BUCAL

III.3.1. *Vestíbulo.* Presenta vestíbulos labiales y carece de vestíbulo bucal, así como carrillos y músculos de la masticación (en este último caso presentes, pero menos desarrollados que en mamíferos terrestres), aunque la musculatura gular asociada al aparato hioideo si que está muy desarrollada para ayudar en las funciones de ecolocalización y succión (Cozzi et al., 2017).

III.3.2. *Cavidad propia de la boca.* Presenta un límite dorsal: el techo

(integrado por el paladar duro y blando), y un límite ventral: el suelo, que contiene la lengua, con sus papilas linguales (Yamasaki et al., 1976; Yoshimura y Kobayashi, 1997), los recesos y pliegues sublinguales, y los dientes, de donde se puede obtener la edad aproximada (Hohn, 2009).

III.4. CAVIDAD FARÍNGEA

III.4.1. OROFARINGE

Vincula la cavidad bucal con la laringofaringe y a su vez con el esófago. Comienza en el istmo de las fauces, se continúa con las fauces y termina en la cara lingual del cartílago epiglótico. Aunque está herméticamente cerrado durante el desarrollo fetal, puede abrirse durante la gestación para permitir la entrada de líquido amniótico al canal alimentario fetal para estimular las glándulas que producen enzimas gástricas (McGeady et al., 2017).

III.4.2. NASOFARINGE

Conecta la cavidad nasal con la cavidad laríngea y la laringofaringe. Hay que destacar la presencia del orificio faríngeo de la trompa auditiva (Mead, 2009), con varias funciones fisiológicas, entre ellas la de regular la presión y aportar oxígeno extra, que podría ser clave a la hora de evitar el síndrome de descompresión tal y como ocurre en otras partes más bajas del aparato respiratorio (García-Párraga et al., 2018).

III.4.3. LARINGOFARINGE

Cavidad que conecta la faringe con el esófago y donde podemos destacar los recesos piriformes que ligeramente asimétricos en odontocetos facilitarían la ingestión de grandes presas (Macleod et al., 2007).

III.5. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE OTRAS ESTRUCTURAS

CRANEALES

La osteología del cráneo de los cetáceos ha sido bien descrita por Mead y Fordyce (2009) y se toma como referencia para cualquier aspecto de los huesos del cráneo, que albergan las diferentes estructuras craneales blandas.

III.5.1. MELÓN

Perfectamente visible desde el exterior (algunas especies presentan melones más prominentes que otras). Es un acúmulo de grasa especial con una función acústica. Está situado sobre los huesos de la cara y por delante del hueso frontal. En los odontocetos estos huesos forman una ligera concavidad, muy desarrollada en el cachalote, lo que sería comparable a un "anfiteatro" (Berta et al., 2014). El melón de los delfines u órgano espermaceti del cachalote, conforman con los huesos una potente caja de resonancia. En los odontocetos la emisión de ultrasonidos es más nasal (aunque también se produce a nivel laríngeo - Huggenberger et al., 2009).

El melón está fijado por los músculos nasolabiales (Hosokawa y Kamiya, 1965; Rauschmann et al., 2006; Harper et al., 2008), que pertenecen al grupo residual del sistema facial neuromuscular (Nickel et al., 1986; Sandoval, 2000; Harper et al., 2008).

III.5.2. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Existe la presencia de hemisferios cerebrales y cerebelo, que continúan desarrollándose en el animal perinatal (Rauchmann et al., 2006). Respecto a los primeros, empieza ya a diferenciarse desde etapas tempranas el diencéfalo y telencéfalo y del cerebelo destaca el tentorio óseo. Se han usado técnicas de RM y reconstrucción tridimensional para su estudio (Marino et al., 2001)

III.5.3. OÍDO

Aunque el oído es de una complejidad enorme, se suma al melón en las funciones de ecolocalización (Whitlow, 2009). El orificio faríngeo de la trompa auditiva ya descrito en la nasofaringe conecta a través de un pseudodivertículo de la trompa auditiva con el

oído medio (Cozzi et al., 2017). Desde su paso del medio terrestre a la vida acuática, los cetáceos han tenido que adaptar muchas de sus estructuras anatómicas cefálicas, dando como resultado la característica asimetría ósea de los huesos de la cabeza (Macleod et al., 2007) y la telescopización (Rommel et al., 2009), donde algunos huesos se han superpuesto a otros (a modo de telescopio plegable) como respuesta a la protección de estructuras encefálicas y a los mecanismos de ecolocalización (Whitlow, 2009), un sistema de biosonar que hace que puedan comunicarse, orientarse y capturar presas mediante la emisión de vocalizaciones ultrasónicas, fuera del rango audible por la mayoría de los mamíferos terrestres, siendo el murciélago la especie que más se asemeja en su sistema auditivo. Por todas estas causas quizás sea el oído la estructura anatómica que más cambios ha sufrido en los cetáceos. Todos los fósiles registrados y los cetáceos recientes tienen relativamente los mismos huesos del oído (Thewissen y Hussain, 1993). Debido a la vida acuática, el pabellón auditivo externo ha desaparecido hasta hacerse vestigial, la membrana timpánica se ha osificado y el canal auditivo externo ha sido reducido a un estrecho pasaje. En los odontocetos el oído medio y el interno no contactan con el hueso temporal y están aislados en la forma de un complejo “perioticotimpánico”, por tanto, la transmisión del sonido deja de ser ósea (como en la mayoría de los mamíferos) para pasar a ser "adiposa" mediante cuerpos grasos “perimandibulares” especializados que contactan con el complejo “perióticotimpánico” (Ketten, 1994). Incluso dentro de los cetáceos existen diferencias anatómicas en el oído, ya que en los misticetos (cetáceos con barbas) los huesos timpánico y periótico conectan al cráneo mediante sinostosis (Numella et al., 2007), existiendo contacto con los huesos escamoso y exoccipital; se sospecha que el canal auditivo externo pueda ser más funcional (aunque la conducción a través de los cuerpos grasos sea la más preponderante) que en el caso de los odontocetos y transmitir el sonido hasta la membrana timpánica, haciendo por ejemplo que las vibraciones del cráneo causen un diferencial de movimiento entre el hueso periótico (firmemente conectado con el cráneo) y los huesecillos del oído medio (Yamato et al., 2012).

III.5.4. OJO.

El sentido de la vista es secundario a la función de ecolocalización, con la que

realmente se orientan los cetáceos. Respecto a la órbita, el hueso lacrimonasal y el cigomático están fusionados formando el hueso lacrimocigomático (Rauschmann et al., 2006; Mead, 2009; Cozzi et al., 2017).

III.6. ESTUDIO ENDOSCÓPICO.

La endoscopia ha sido usada con fines diagnósticos fundamentalmente en animales vivos de delfinarios, principalmente delfín mular (Chaplin et al., 1996), y en la mayoría de los casos para broncoscopias (Harrel et al., 1996; Dover y Van Bonn, 2001; Tsang et al., 2002).

III.7. ESTUDIOS REALIZADOS CON TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN.

III.7.1. RESONANCIA MAGNÉTICA.

Este campo ha sido más prolífico en la literatura científica, aunque no tanto en los neonatos y perinatales (Marino et al., 2001; Montie et al., 2007)

III.7.2. TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA.

Pasa igual con las tomografías, costando encontrar artículos que hablen del desarrollo anatómico antes y alrededor del nacimiento (Liste et al., 2006.).

III.7.3. ECOGRAFÍA.

No se ha localizado casi ningún artículo y la mayoría están enfocados al aparato reproductor de los cetáceos.

III.8. ESTUDIOS ANATÓMICOS.

Hacen falta más estudios anatómicos generales de estas especies que incluya la embriología y para nosotros, a la espera de que publiquemos el resto de las regiones

anatómicas en un atlas, el más completo hasta la fecha es Cozzi et al., 2017.

III.9. ESTUDIOS HISTOLÓGICOS.

Estos estudios han sido muy útiles, complementando los resultados del diagnóstico de imagen (Yamasaki et al., 1978; Huggenberger et al., 2006; Buono et al., 2015; Cozzi et al., 2017).

RELACIÓN DE ARTÍCULOS

IV. RELACIÓN DE ARTÍCULOS

IV.1. ARTÍCULO 1

Título: A Study of the Head during Prenatal and Perinatal Development of Two Fetuses and One Newborn Striped Dolphin (*Stenella coeruleoalba*, Meyen 1833) Using Dissections, Sectional Anatomy, CT, and MRI: Anatomical and Functional Implications in Cetaceans and Terrestrial Mammals

Autores:

¹ Álvaro García de los Ríos y Loshuertos, ² Alberto Arencibia Espinosa, ³ Marta Soler Laguía, ¹ Francisco Gil Cano, ¹ Francisco Martínez Gomariz, ⁴ Alfredo López Fernández, ¹ Gregorio Ramírez Zarzosa.

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

² Departamento de Morfología. Anatomía y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35416 Las Palmas de Gran Canaria, España.

³ Departamento de Medicina y Cirugía, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

⁴ Departamento de Biología—CESAM, Universidade de Aveiro, Campus Universitario de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal.

Revista: Animals

Abstract: Our objective was to analyze the main anatomical structures of the dolphin head during its developmental stages. Most dolphin studies use only one fetal specimen due to the difficulty in obtaining these materials. Magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography (CT) of two fetuses (younger and older) and a perinatal specimen cadaver of striped dolphins were scanned. Only the older fetus was frozen and then was transversely cross-sectioned. In addition, gross dissections of the head were made on a perinatal and an adult specimen. In the oral cavity, only the mandible and maxilla teeth have started to erupt, while the most rostral teeth have not yet erupted. No salivary glands and masseter muscle were observed. The melon was well identified in CT/MRI images at early stages of development. CT and MRI images allowed observation of the maxillary sinus. The orbit and eyeball were analyzed and the absence of infraorbital rim together with the temporal process of the zygomatic bone holding periorbit were described. An enlarged auditory tube was identified using anatomical sections, CT, and MRI. We also compare the dolphin head anatomy with some mammals, trying to underline the anatomical and physiological changes and explain them from an ontogenic point of view.

URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/9/12/1139>

IV.2. ARTÍCULO 2

Título: Comparative Anatomy of the Nasal Cavity in the Common Dolphin *Delphinus delphis* L., Striped Dolphin *Stenella coeruleoalba* M. and Pilot Whale *Globicephala melas* T.: A Developmental Study

Autores:

^{1,2} Alvaro García de los Ríos y Loshuertos, ³ Marta Soler Laguía, ⁴ Alberto Arencibia Espinosa, ^{5,6} Alfredo López Fernández, ⁶ Pablo Covelo Figueiredo, ¹ Francisco Martínez Gomariz, ¹ Cayetano Sánchez Collado, ⁷ Nuria García Carrillo, ¹ Gregorio Ramírez Zarzosa.

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

² Centro de Estudio y Conservación de Animales Marinos (CECAM), 51002 Ceuta, España..

³ Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

⁴ Departamento de Morfología, Anatomía y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35416 Las Palmas de Gran Canaria, España.

⁵ Departamento de Biología—CESAM, Campus Universitario de Santiago, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal.

⁶ Coordinadora para el Estudio de los Mamíferos Marinos (CEMMA), Ap. 15, Gondomar, 36380 Pontevedra, España.

⁷ Servicio de Experimentación Animal, Área Científica-Técnica de Investigación, Edificio Centro de Experimentación e Investigación Biomédica (CEIB), Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

Revista: Animals

Abstract: Our goal was to analyze the main anatomical structures of the dolphin external nose and nasal cavity from fetal developmental stages to adult. Endoscopy was used to study the common development of the external nose and the melon, and nasal mucosa. Magnetic resonance imaging (MRI) and anatomical sections were correlated with anatomical sections. Computed tomography (CT) was used to generate 3D reconstructions of the nasal bones and nasal cavities to study its development. Dissections, histological and pathological studies were carried out on the nasal mucosa to understand its function. These results were compared with the horse. Endoscopy showed an external nose with two lips and the upper lip is divided by a groove due to the nasal septum and an obstruction of right nasal cavity was diagnosed in a newborn. Two diverticula (air sacs) were found in the nasal vestibule and an incisive recess (premaxillary sac) in the nasal cavity. These findings were corroborated by 3D reconstructions of the nasal cavities, MRI, anatomical sections and dissections. The presphenoid and ethmoid bones were fused at early stages of fetal development. The ethmoid is the last bone to ossify in the nasal cavity.

URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/2/441>

IV.3. ARTÍCULO 3

Título: Endoscopic Study of the Oral and Pharyngeal Cavities in the Common Dolphin, Striped Dolphin, Risso's Dolphin, Harbour Porpoise and Pilot Whale: Reinforced with Other Diagnostic and Anatomic Techniques

Autores:

^{1,2} Álvaro García de los Ríos y Loshuertos, ³ Marta Soler Laguía, ⁴ Alberto Arencibia Espinosa, ¹ Francisco Martínez Gomariz, ¹ Cayetano Sánchez Collado, ^{5,6} Alfredo López Fernández, ¹ Francisco Gil Cano, ¹ Juan Seva Alcaraz, ¹ Gregorio Ramírez Zarzosa

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

² Centro de Estudio y Conservación de Animales Marinos (CECAM), 51001 Ceuta, España.

³ Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

⁴ Departamento de Morfología, Anatomía y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35416 Las Palmas de Gran Canaria, España.

⁵ Departamento de Biología—CESAM, Campus Universitario de Santiago, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal.

⁶ Coordinadora para el Estudio de los Mamíferos Marinos—CEMMA, Ap. 15, Gondomar,

36380 Pontevedra, España.

Revista: Animals

Abstract: In this work, the fetal and newborn anatomical structures of the dolphin oropharyngeal cavities were studied. The main technique used was endoscopy, as these cavities are narrow tubular spaces and the oral cavity is difficult to photograph without moving the specimen. The endoscope was used to study the mucosal features of the oral and pharyngeal cavities. Two pharyngeal diverticula of the auditory tubes were discovered on either side of the choanae and larynx. These spaces begin close to the musculotubaric channel of the middle ear, are linked to the pterygopalatine recesses (pterygoid sinus) and they extend to the maxillopalatine fossa. Magnetic Resonance Imaging (MRI), osteological analysis, sectional anatomy, dissections, and histology were also used to better understand the function of the pharyngeal diverticula of the auditory tubes. These data were then compared with the horse's pharyngeal diverticula of the auditory tubes. The histology revealed that a vascular plexus inside these diverticula could help to expel the air from this space to the nasopharynx. In the oral cavity, teeth remain inside the alveolus and covered by gums. The marginal papillae of the tongue differ in extension depending on the fetal specimen studied. The histology reveals that the incisive papilla is vestigial and contain abundant innervation. No ducts were observed inside lateral sublingual folds in the oral cavity proper and caruncles were not seen in the prefrenular space.

URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/2/441>

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

Artículo 1

- Las secciones anatómicas en el feto han sido muy importantes para asegurarnos que ciertas estructuras anatómicas fueron correctamente identificadas, sin embargo, las disecciones anatómicas fueron necesarias para confirmar la presencia de dichas estructuras. La TC se empleó para identificar las características de huesos y cartílagos tanto en el feto como en el recién nacido. Por otro lado, las diferentes secuencias de RM se emplearon para reconocer y diferenciar estructuras viscerales, lo que ayudará a los clínicos a diagnosticar diversas patologías en la región cefálica del delfín.
- Hemos observado que los dientes más rostrales erupcionan tras la lactación y en el periodo perinatal su ausencia ayuda durante la succión de leche y para proteger las papilas mamarias. Además, hemos observado la ausencia o atrofia del músculo masetero desde el estadio fetal hasta el adulto en delfín listado (sustituido por tejido adiposo mezclado con fibras musculares en su posición anatómica) porque los delfines tragan sus presas y no mastican.
- No se observaron nódulos linfáticos ni glándulas salivares durante la etapa del desarrollo en cabezas de delfín, solo una mezcla de grasa y fibras musculares.
- El seno maxilar se observó con un contenido heterogéneo en el feto y en el periodo perinatal. Este seno puede ser no funcional.
- La fusión entre los huesos lacrimal y cigomático se observó ya en el feto menos

desarrollado.

- La apófisis temporal del hueso cigomático se ha descrito sujetando la periórbita en el feto de delfín.
- Un "pseudodivertículo" similar a la "bolsa gutural" se ha observado conectando la cavidad timpánica (oído medio) con la nasofaringe en las secciones anatómicas del feto.

Artículo 2

- El estudio endoscópico de la anatomía del feto permitió observar simultáneamente el desarrollo del melón y la nariz externa. También, hemos visto que la forma y función de la nariz externa se observa formada por dos labios cerrados muy simples durante el desarrollo fetal y muy sofisticado durante el estadio adulto. El vestíbulo mostraba los "labios de mono", dos divertículos y dos recesos incisivos y pliegues longitudinales en las porciones olfatorias y respiratorias de la cavidad nasal.
- Las reconstrucciones tridimensionales de los espacios aéreos y de la cavidad nasal ósea nos permitió obtener una representación espacial durante el desarrollo de la cavidad nasal y confirmó nuestras observaciones endoscópicas. Las secuencias T1 y T2 sagitales y coronales de RM fueron muy importantes para confirmar que las estructuras anatómicas óseas fueron correctamente identificadas, tal como los huesos presfenoides y etmoides. También las secciones anatómicas y disecciones ayudaron en nuestra identificación de estructuras vistas en los estudios endoscopios, de TC y RM.
- El análisis histológico confirmó la similitud de la mucosa nasal del caballo y del delfín, aunque no se observaron cilios en la porción respiratoria de este último. Los hallazgos patológicos mostraron una hiperqueratosis en el vestíbulo y deberían tenerse en cuenta durante las necropsias de delfines varados.
- La retracción de los huesos nasales, la posición vertical de las cavidades nasales y las especiales paredes óseas nos llevan a recomendar que la cavidad nasal debería denominarse cavidad maxilar ya que estos huesos cierran estas cavidades en delfines como los huesos nasales lo hacen en los mamíferos domésticos.

- El vestíbulo nasal contiene diferentes cavidades similares al divertículo de la nariz que es descrito en caballos. Los divertículos de los cetáceos funcionan como reservorios de agua y protección contra agentes externos. Los pliegues vestibulares son comparables a los pliegues alares descritos en el caballo.
- La fusión entre los huesos etmoides y presfenoides se observó ya en el segundo feto más joven.
- La lámina cribosa del hueso etmoides es el último hueso en osificar en la cavidad nasal en un espécimen recién nacido. Muestra una pequeña fisura perpendicular a ambos lados de la cresta de gallo y una pequeña área cribiforme en la cara nasal del hueso etmoides.
- No se detectaron células olfatorias en la cavidad nasal durante el análisis histológico.

Artículo 3

- Dentro de la cavidad propia de la boca, la papila incisiva está presente en todos los especímenes para comprobar la textura y dureza del alimento y, durante la lactación, para reforzar la falta de dientes incisivos y para prevenir daños en la papila mamaria. Comparativamente, podemos establecer que el paladar del delfín común es morfológicamente diferente de otras especies ya que presenta un surco palatino adicional.
- La lengua morfológica y funcionalmente presenta unas papilas marginales que desaparecen progresivamente tras la lactación, permaneciendo algo más en algunas especies como el calderón común. Los dientes en desarrollo muestran tres capas debajo de la encía, se desarrollan durante el periodo fetal y erupcionan a través de la encía tras la lactación.
- Hemos encontrado glándulas mucosas en las cavidades bucal y faríngea, con una doble función, la protección mecánica y lubricación. Por el contrario, en la nasofaringe hemos encontrado corpúsculos de presión y glándulas serosas para humedecer el área.
- En la laringofaringe, hemos observado que el receso piriforme izquierdo era más grande que el derecho, probablemente para permitir en dicho lado el paso de

grandes presas.

- En la nasofaringe, uno de los grandes hallazgos de este estudio fue encontrar y visualizar por primera vez el divertículo de la trompa auditiva desde etapas tempranas del desarrollo fetal empleando RM y disecciones en cabezas de fetos. Este espacio "divertículo de la trompa auditiva" se extiende rostródorsalmente desde el oído hasta la nasofaringe y contiene aire y un plexo vascular, similar a aquellos mamíferos que poseen dicha estructura.
- Las endoscopias de la cavidad bucofaríngea serían útiles para destacar alteraciones en estructuras anatómicas a estos niveles, que puedan provocar muertes.

RESUMEN GENERAL

VI. RESUMEN GENERAL

VI.1. INTRODUCCIÓN

Las técnicas de estudio anatómico en los cetáceos se limitaron tradicionalmente a la disección y observación de los ejemplares obtenidos (Carte y Macalister, 1868; Beauregard, 1882; Collet 1886; Pilliet y Boulart, 1895; Schulte, 1916; Ridewood, 1922; Eales, 1950). Hoy en día, con la evolución de la tecnología y aparición y mejora de técnicas de diagnóstico por imagen, se ha podido ampliar los conocimientos anatómicos apoyados en los conocimientos heredados de aquellos científicos y exploradores pioneros.

La RM y la TC son dos de las técnicas más usadas en este sentido (Liste et al., 2006; Alonso-Farre et al., 2014), aunque también la histología da mucha información (Sokolov y Volkova, 1973; Drabek y Kooyman, 1984), pero en los últimos años han ganado enteras técnicas como las reconstrucciones 3D (Marino et al., 2001) y la endoscopia (Van Bonn et al., 1997; Dover y Van Bonn 2001; Tsang et al., 2002).

Sin embargo, actualmente existe poca información acerca de la anatomía prenatal de la región cefálica de los cetáceos, y algo más sobre la postnatal, centrándose casi toda la literatura científica existente en los ejemplares adultos.

VI.2. OBJETIVOS

1. Obtener imágenes de la cabeza en los tres planos tridimensionales de Resonancia Magnética y Tomografía Computarizada para correlacionarlas con

secciones anatómicas (artículos 1, 2 y 3).

2. Aplicar la técnica de endoscopia a nivel de las cavidades nasal y bucofaríngea para analizar su mucosa y realizar la observación de sus estructuras anatómicas "in situ" (artículos 2 y 3).

3. Revisar la terminología anatómica erróneamente empleada en la literatura científica y citarlos acorde a la nomenclatura anatómica veterinaria (artículos 1, 2 y 3).

4. Incluir técnicas histológicas, anatómicas (disección, secciones anatómicas, inyección de látex) y de reconstrucción tridimensional para conseguir una mejor información de las estructuras anatómicas durante el desarrollo prenatal (artículos 2 y 3).

5. Llevar a cabo estudios de anatomía comparada con distintas especies y edades (artículos 1, 2 y 3).

6. Establecer unas bases anatómicas que sirvan como referencia a futuros estudios sobre el desarrollo y que ayuden a los profesionales que trabajen con cetáceos (artículos 1, 2 y 3).

VI.3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el presente estudio, se emplearon 30 ejemplares de cetáceos y 4 de équidos. Entre los cetáceos, se emplearon 5 especies en total: delfín listado (*Stenella coeruleoalba* M.), delfín común (*Delphinus delphis* L.), calderón común (*Globicephala melas* T.), calderón gris (*Grampus griseus* C.) y marsopa común (*Phocoena phocoena* L.), de los cuales 18 eran nonatos, 5 neonatos, 2 juveniles y 5 adultos, cubriendo un rango de tamaño que iba entre 11,8 y 204 centímetros. Todos los ejemplares vararon muertos y procedían de las costas españolas de Galicia, Ceuta, Valencia y Murcia, siendo conservados bien en formaldehído al 10% (en algún que otro caso en una solución embalsamadora de formaldehído, fenol, glicerina y alcohol isopropílico) o bien congelados a -20° C. Los tres caballos y el feto (*Equus caballus* L.) procedían del matadero de Orihuela (Alicante).

Las tomografías computarizadas fueron realizadas con 2 aparatos distintos:

- Un tomógrafo de emisión de positrones (PET), Tomógrafo emisor de fotones (SPECT) y tomógrafo estándar (TC) (PET/SPECT/CT) de Albira™ Systems en el CEIB de Murcia.
- Un tomógrafo dual de dos detectores (General Electric HiSpeed, General Electric Healthcare, Madrid, España) en el Hospital Clínico Veterinario de Murcia.

Las Resonancias Magnéticas fueron realizadas con 2 aparatos en 2 lugares distintos:

- Un aparato de resonancia magnética de 1,5 T (Sigma Excite 1.5 T MR, General Electric medical systems, Milwaukee, WI) ubicado en el Centro de Resonancia Magnética del Levante, Ciudad Quesada, Alicante, España.
- Un aparato de resonancia magnética Philips Medical System Intera de 1,5 T (Philips Medical System Intera, Eindhoven, The Netherlands; Clínica Radiológica, Ceuta, Spain) en la Clínica Radiológica de Ceuta, España.

Las exploraciones endoscópicas se efectuaron usando un endoscopio rígido (Karl Storz Autocon 200, Tuttlingen, Germany) con una cámara procesadora (Storz image 1 hub, camera 123 head Karl Storz Image 1 H3 HD, a Storz power led 175). Para la nariz externa se usó un endoscopio (visión 0°, diámetro 3 mm, longitud 14 cm, con fibra óptica de transmisión ligera incorporada) y para la cavidad nasal un endoscopio (visión 30°, diámetro 2.7 mm, longitud 18 cm, también con fibra óptica de transmisión ligera incorporada).

Las secciones histológicas, se cortaron con un microtomo, se situaron en un portaobjetos y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. Posteriormente, se fotografiaron con un microscopio computarizado ligero (Axioskop 40, Zeiss, Jena, Germany) con cámara en color incorporada (Insight 2 AxioCam 105).

Las reconstrucciones 3D se realizaron procesando las imágenes (dicom) obtenidas con los equipos tomográficos con el programa AMIRA para Sistemas Fei 5.6 y las secciones anatómicas se realizaron con una sierra de banda en la Sala de Disección del Departamento de Anatomía.

Artículo 1

Para el estudio seccional, tomográfico y de resonancia magnética se emplearon cuatro especímenes prenatales, dos perinatales y un adulto, todos de la especie delfín listado (*Stenella coeruleoalba* M.). Todos los ejemplares fueron encontrados muertos en las costas españolas Atlántica, Mediterránea y del estrecho de Gibraltar, por lo que no fue necesario el permiso del comité de ética.

El feto más pequeño se escaneó en un PET/SPECT/CT del CEIB de la Universidad de Murcia. El segundo de mayor tamaño con un tomógrafo General Electric (GE) de la Clínica Virgen de África en Ceuta. El recién nacido se escaneó con un aparato GE del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia. Todas las imágenes de TC (dicom) fueron transferidas a una estación de trabajo y analizadas con los programas Radiant DICOM viewer y Osiris 4.0 para Windows, estableciéndose diferentes tipos de ventana (mediastino vascular y de tejidos blandos).

El primer feto y el recién nacido se analizaron con un aparato de resonancia magnética (GE) de alto campo 1,5 Tesla en el Centro Veterinario de Diagnóstico por Imagen de Levante en Alicante con una antena para muñeca humana (feto) y para cabeza humana. Se adquirieron diferentes secuencias potenciadas en T1 y T2 en los tres planos espaciales. El segundo feto se estudió con un aparato de resonancia magnética Philips Medical System Intera (PMSI) en la Clínica Radiológica de Ceuta empleando una antena de sensibilidad corporal. Se adquirieron diferentes secuencias potenciadas en T1 y T2 en los tres planos espaciales. Todos los especímenes fueron posicionados para su estudio en decúbito esternal. Las imágenes de resonancia magnética (dicom) fueron transferidas a una estación de trabajo y posteriormente analizadas con Radiant DICOM viewer y Osiris 4.0 para su visualización.

Para la evaluación anatómica, el feto más joven, el recién nacido y la hembra adulta más joven se preservaron con formol al 10% y solamente el adulto de mayor tamaño fue fijado inyectando solución embalsamadora por las arterias carótidas y venas yugulares derechas e izquierdas. Tras 48 horas las carótidas y yugulares fueron inyectadas con látex rojo y azul, respectivamente. El recién nacido fue preservado congelado pero el segundo feto más desarrollado fue congelado a -80°C y posteriormente seccionado seriadamente de la cabeza a la cola con una sierra de banda del Departamento de

Anatomía y Embriología de la Universidad de Murcia. Se obtuvieron 57 secciones transversales de 0,7-1 cm de grosor, después fueron fotografiadas y las imágenes se correlacionaron con las imágenes de TC y RM. Los cortes fueron inmersos en acetona para su plastinación y posteriormente congelados.

La cabeza de la hembra recién nacida se empleó para la disección del melón mediante secciones transversales y horizontales para mostrar el núcleo y el anillo de tejido periférico. El tapón y la cavidad nasal se observaron tras retirar la nariz externa y el vestíbulo de la nariz.

La cabeza, cara y áreas adyacentes del ejemplar de mayor tamaño fue diseccionada mostrando la grasa frontal y facial, la superficie del melón, la mandíbula y músculos faciales superficiales. Posteriormente se retiró cuidadosamente el tejido fibroso y graso para dejar expuesto el drenaje venoso, varios músculos depresores de la lengua, músculos linguales y el rudimento del meato acústico externo.

Artículo 2

En el estudio se emplearon un total de dieciséis ejemplares prenatales, tres perinatales, dos juveniles y cuatro adultos de tres especies de delfín: (común, *Delphinus delphis* ; listado, *Stenella coeruleoalba*; calderón común, *Globicephala melas*); además de cuatro especímenes de équidos (*Equus caballus*). Todos los ejemplares de delfín fueron encontrados muertos en las costas españolas Atlántica, Mediterránea y del estrecho de Gibraltar, y los équidos procedían del matadero de Orihuela, por lo que no fue necesario el permiso del Comité de Ética de la Universidad de Murcia. El estudio endoscópico de los ejemplares seleccionados (la totalidad de los fetos, un recién nacido y un adulto) fue realizado en la Clínica Bonafé de La Alberca, Murcia, durante aproximadamente cinco meses. De estos ejemplares, catorce fetos, un recién nacido y un adulto fueron escaneados en los tomógrafos y aparatos de resonancia magnética. De estos últimos, seis fetos, un recién nacido y un adulto fueron inyectados en la Sala de Disección del Departamento de Anatomía y Embriología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, con silicona a través del espiráculo llenando primero el vestíbulo y luego la cavidad nasal, oscilando la cantidad entre 1-8 cm³ en fetos, 16 cm³ en recién nacidos y 20-28 cm³ en adultos. Posteriormente el espiráculo fue cubierto por una banda elástica para evitar el

reflujo de silicona. Dos especímenes adultos se emplearon para las secciones anatómicas, uno de ellos para el análisis histológico, un recién nacido para el estudio patológico y dos adultos para disección.

Para realizar la endoscopia se empleó una óptica rígida (Karl Storz Autocon 200). El endoscopio rígido empleado para el estudio de la nariz externa era de 3 mm de diámetro y 14 cm de longitud, mientras que para la cavidad nasal era rígido con un ángulo oblicuo de 30°, 2.7 mm de diámetro y 18 cm de longitud. El procedimiento fue realizado en fetos y especímenes juveniles siguiendo los protocolos estándar. El animal se colocaba en decúbito esternal mirando al endoscopista. Se empezaba a visualizar la morfología de la nariz externa, luego se exploraba el vestíbulo, posteriormente se separaban los tapones nasales de los pliegues vestibulares y se pasaba a la parte respiratoria y olfatoria de la cavidad nasal. Por último, se llegó a observar la nasofaringe en el fondo de la cavidad.

Los estudios de resonancia magnética se realizaron con un aparato (GE) de alto campo (1.5 Tesla) del Centro Veterinario de Diagnóstico por Imagen del Levante en Alicante empleando unas antenas de humana para rodilla en fetos pequeños, para muñeca en fetos medianos y para cabeza en fetos grandes. Todas las imágenes (dicom) fueron analizadas con el programa Radiant DICOM viewer.

Las tomografías y las reconstrucciones tridimensionales de la cavidad nasal ósea se realizaron en cuatro fetos muy pequeños con el tomógrafo PET/SPECT/CT Albira Systems del CEIB de la Universidad de Murcia y finalmente en tres fetos de mayor tamaño, un recién nacido y un adulto con un tomógrafo (GE) Hispeed Dual en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia. Todas las imágenes (dicom) se analizaron y procesaron con el programa AMIRA for Fei Systems 5.6. Las representaciones volumétricas se generaron para obtener reconstrucciones volumétricas de la anatomía interna.

Las tomografías y las reconstrucciones tridimensionales de los espacios aéreos de la cavidad nasal se llevaron a cabo inyectando Silicona Xiameter® por el espiráculo en varios especímenes de fetos, recién nacidos y adultos para obtener moldes nasales y aumentar las propiedades de contraste tomográfico. Los especímenes inyectados fueron escaneados con el tomógrafo (GE) Hispeed Dual en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia y las imágenes (dicom) se emplearon para obtener las reconstrucciones tridimensionales de la cavidad nasal con el programa AMIRA for Fei

Systems 5.6.

Un recién nacido y un juvenil de delfín listado fueron congelados a -20°C previamente a la obtención de cortes sagitales y coronales de la cabeza. Un espécimen adulto de la misma especie fue congelado a -46°C y posteriormente se obtuvieron secciones sagitales. El grosor de los cortes oscilaba entre los 0,5-0,7 cm. de grosor. Todas las secciones obtenidas fueron preservadas con formol al 10% y posteriormente refrigeradas.

Catorce fetos empleados en el estudio se conservaron en formol al 10% en refrigeración, dos fueron fijados con solución embalsamadora por las arterias y venas umbilicales. Un ejemplar adulto de delfín listado se le inyectó solución embalsamadora por la vena yugular externa y atrios derecho e izquierdo con una bomba eléctrica. Tras 48 horas se inyectó látex rojo y azul por arterias y venas, respectivamente. A un recién nacido enfermo de las vías aéreas se le realizó una disección y endoscopia para ver las alteraciones de la cavidad nasal. También se empleó un adulto sano para observar la anatomía normal de la cavidad nasal.

Finalmente, se realizó un análisis histológico de la cavidad nasal en un espécimen adulto. Para ello se cortaron bloques rectangulares de la mucosa a diferentes niveles de la cavidad nasal. Se guardaron en casetes en formol al 10% y posteriormente sumergieron en parafina para hacer bloques para obtener secciones con un microtomo. Las secciones se colocaron en portaobjetos de cristal y posteriormente se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. Las muestras fueron fotografiadas con un microscopio óptico computarizado (Axioskop 40).

Artículo 3

En este último estudio se emplearon 24 odontocetos pertenecientes a 5 especies (listado- *Stenella coeruleoalba* -, común - *Delphinus delphis* -, calderón común - *Globicephala melas* -, calderón gris - *Grampus griseus* - y marsopa - *Phocoena phocoena*) de todas las edades para realizar diferentes técnicas de diagnóstico en todos los especímenes: endoscopia, resonancia magnética, disecciones e histología. Todos los animales varados en las costas Mediterránea, Atlántica y del estrecho de Gibraltar fueron encontrados muertos por lo cual no fue necesario el permiso del Comité de Ética de la Universidad de Murcia. Dieciséis fetos y un juvenil se transportaron a la Clínica Bonafé

de la Alberca, Murcia, para realizar el estudio endoscópico. Ocho fetos se emplearon para realizar resonancias magnéticas. Las secciones anatómicas se hicieron a un recién nacido, un juvenil y un adulto. Este mismo adulto y dos fetos se emplearon para el análisis histológico y un recién nacido para disección.

Para el estudio endoscópico se empleó una óptica rígida (Karl Storz Autocon 200) Clínica Bonafé de la Alberca, Murcia. Para el estudio de las cavidades bucal, orofaríngea y laringofaríngea se usó el endoscopio rígido, de 0°, 4 mm de diámetro y 14 cm de longitud, mientras que para analizar la nasofaringe la óptica era rígida con un ángulo oblicuo de 30°, 2.7 mm de diámetro y 18 cm de longitud. El procedimiento realizado comenzó analizando la cavidad bucal, a continuación, la faringe (orofaríngea y laringofaríngea). Para examinar la nasofaringe se introdujo la óptica por el espiráculo, se pasó al vestíbulo, posteriormente a la porción olfatoria y respiratoria de la cavidad nasal hasta acabar en la nasofaringe. Los especímenes estaban colocados en decúbito esternal mirando al endoscopista.

La resonancia magnética se realizó con un aparato (GE) de alto campo (1.5 Tesla) del Centro Veterinario de Diagnóstico por Imagen del Levante en Alicante empleando unas antenas de humana para rodilla en fetos pequeños y para cabeza en fetos grandes. Todas las imágenes (dicom) fueron analizadas con el programa Radiant DICOM viewer.

Un recién nacido, un juvenil y un adulto de listado se congelaron previamente a -20°C antes de obtener las secciones coronales y sagitales de la cabeza. Otro adulto de listado se congeló previamente a -46°C antes de obtener las secciones sagitales. Todos los cortes se realizaron con una sierra de banda de la Sala de Disección con un grosor de entre 0.5-0.7 cm. Todas las secciones obtenidas fueron preservadas en formol al 10% y luego almacenadas en contenedores en refrigeración. Dieciséis fetos fueron preservados en formol al 10%. Otros dos fetos más y un adulto se embalsamaron a través de las venas umbilicales y vena yugular externa y aurículas, respectivamente, de forma manual con jeringas y a un ejemplar adulto (scomu5) empleando una bomba peristáltica. Las secciones se emplearon para el estudio del divertículo faríngeo de la trompa auditiva. Otro espécimen adulto se empleó para el estudio de la anatomía normal de las cavidades bucal y nasal y, otro feto y otro adulto para explorar los huesos de las cavidades bucal y faríngea.

La histología de las cavidades bucal y faríngea fue analizada en dos fetos, uno de delfín común y un adulto de listado. Muestras rectangulares de la mucosa nasal se

obtuvieron de diferentes partes de la cavidad nasal. Las muestras fueron orientadas perpendicularmente en bloques de parafina y se procesaron con un microtomo obteniendo secciones de parafina en portaobjetos. Posteriormente se tiñeron con hematoxilina-eosina. Las muestras fueron fotografiadas con un microscopio óptico con cámara incorporada.

VI.4. RESULTADOS

Artículo 1

Todos los especímenes fueron analizados empleando las técnicas de diagnóstico por imagen: tomografía computarizada (TC) y resonancia magnética (RM); las secciones anatómicas solamente se usaron en un feto.

Cavidad bucal

En los tres especímenes se observó la lengua mediante secciones anatómicas, TC y RM, y en algunos ejemplares se visualizó el receso sublingual lateral, el alveolo dental (en la mandíbula, pero no en el maxilar) y en cuanto a los dientes:

- que los más caudales crecían cubiertos por la encía en los huesos maxilar y mandibular.
- que los dientes de la mitad caudal se estaban formando en ambas arcadas dentarias.
- que los dientes del área incisiva no habían erupcionado completamente, mientras que el resto de los dientes de ambas arcadas ya lo habían hecho.

Respecto a los músculos:

- El músculo masetero no fue observado en los especímenes estudiados
- El músculo orbicular de la boca estaba ausente.
- Los músculos depresores de la mandíbula, milohioideo y digástrico estaban bien desarrollados.

Hocico

El cartílago mesorrostral queda entre los huesos vómer, maxilar e incisivo apoyándose ventralmente en el surco del vómer. En el feto más joven la TC muestra dos canales infraorbitarios en el hueso incisivo.

Melón

La parte caudal del melón está situada más próxima a la cavidad nasal. En las secciones anatómicas se apreciaba el núcleo blanco con tejido conectivo y músculos en

la periferia. La TC y la RM también nos permitieron distinguir la morfología del melón y compararla con las secciones anatómicas.

Cavidad nasal y senos paranasales

Desde el vestíbulo, el espiráculo está cerrado por un pliegue musculomembranoso. El vestíbulo está dividido en dos por la porción membranosa del septo nasal. En el vestíbulo se observan unos divertículos de la nariz a ambos lados de los pliegues o tapones nasales, bajo los cuales hay dos cavidades nasales separadas por el septo nasal. Se observaron el seno maxilar, la nasofaringe y las coanas con las técnicas de diagnóstico por imagen y anatomía seccional.

Órbita y globo ocular

La órbita presenta un borde óseo incompleto formado por una borde supraorbitario constituido por el hueso frontal, pero no hay borde infraorbitario. Al principio del desarrollo se observa con PET/SPEC/CT sincondrosis de los huesos lacrimal y cigomático que va osificando (sinostosis) conforma avanza la gestación. La apófisis temporal del hueso cigomático cruza de forma oblicua bajo la periórbita a la cual sujeta.

El globo ocular se observó con RM pero el cristalino con RM y TC.

Sistema Nervioso Central

Se observaron con diferentes técnicas y en los diferentes ejemplares todas estas estructuras:

- la cisura longitudinal del cerebro
- el seno sagital dorsal en la corteza
- el ventrículo lateral
- las meninges y el acueducto del mesencéfalo
- los nervios facial y vestibulococlear y, la arteria laberíntica.
- el tentorio del cerebelo junto al vermis y hemisferios cerebelosos.

Oído

Se observaron con diferentes técnicas y en diferentes ejemplares todas estas estructuras:

- las porciones petrosa y timpánica del hueso temporal
- la cadena de huesecillos óseos del oído medio (martillo, yunque y estribo)
- el canal espiral de la cóclea y el vestíbulo óseo
- el rudimento del pabellón auricular (porción cartilaginosa del meato acústico)

externo)

Laringe

Se observaron con diferentes técnicas y en diferentes ejemplares todas estas estructuras:

- rodeando los cartílagos laríngeos, la laringofaringe y el aparato hioideo y sus conexiones con el oído.
- la articulación temporomandibular y la grasa del canal de la mandíbula, la cual estaba muy cerca del oído medio, en contacto con la pared timpánica.
- tres huesos del aparato hioideo osificados (estilohioides, basihioideos y tirohioides), no así los cartilagosos (epihioideos, queratohioideos y timpanohioideos). El extremo caudal del tirohioides continuaba sin osificar en el recién nacido.

Cavidad del cráneo

Las fontanelas se apreciaron perfectamente con TC y RM.

VI.5. DISCUSIÓN

Artículo 1

Cavidad bucal

Los dientes más rostrales, equivalentes a los incisivos, erupcionan más tarde que los más caudales, correspondientes a los premolares y molares. Esto tendría una aplicación durante la lactación (periodo perinatal), ya que estos dientes al erupcionar después ayudan durante la succión de la leche y al mismo tiempo evitan dañar el pezón.

No hemos encontrado el músculo masetero en los especímenes de fetos, recién nacido ni adultos de delfín listado; el músculo está atrofiado. Funcionalmente, el músculo masetero es un músculo extremadamente potente para la masticación, y los odontocetos han perdido esta característica a través de la evolución, porque la mayoría de los odontocetos, con la excepción de las orcas (Werth, 2007) tragan sus presas intactas sin masticar.

Las glándulas salivares y los nódulos linfáticos no se han observado ni en fetos ni en el recién nacido.

Hocico

En el hocico del delfín, hay una unión entre los huesos vómer, maxilar e incisivo. En la nariz de los animales domésticos, el cartílago del septo nasal se extiende

rostralmente hasta las aberturas nasales, pero en cetáceos la cavidad nasal y el hocico están a diferentes niveles debido a la “telescopización”. La punta del hocico tiene tres funciones en los odontocetos: táctil (protopática), ofensiva (junto con la punta de la mandíbula), y protectora como consecuencia de la unión del cartílago mesorrostral con estos tres huesos (vómer, maxilar e incisivo) para absorber impactos (Hosokawa y Kamiya, 1965).

Melón

En nuestro estudio, los músculos rostrales que se insertan en el área fibrosa externa del melón estaban localizados ventrolateralmente al mismo y pertenecen al grupo residual del sistema neuromuscular facial (Nickel et al., 1986; Sandoval, 2000; Harper et al., 2008).

Cavidad nasal y senos paranasales

Rodeando los orificios nasales hay fibras musculares estriadas mezcladas con los músculos del melón que los abren y cierran y actúan como esfínteres musculares.

En las disecciones del vestíbulo nasal en un espécimen fetal, observamos que ambas aberturas nasales tienen un área común bajo el esfínter musculomembranoso (espiráculo u ollar); dicha área vestibular queda dividida en dos vestíbulos nasales derecho e izquierdo por la porción membranosa del septo nasal. Rauschmann et al., (2006) establecieron que bajo el espiráculo u ollar hay un vestíbulo impar. Debajo del espiráculo u ollar, el vestíbulo nasal presenta varios sacos aéreos (divertículos) (Reidenberg y Laitman, 2008) que visualizamos en nuestros especímenes estudiados. En delfines, el tapón nasal, pliegue alar, y el vestíbulo nasal han sido modificados para generar sonido y como reservorio de agua. Hosokawa y Kamiya en 1965, describieron la presencia de los senos maxilar y pterigoideo con una sustancia heterogénea en las secciones III y IV como la que encontramos en las muestras del feto mayor. Estos senos pueden ser no funcionales. Los senos paranasales calientan el aire y disminuyen el peso de la cabeza en los mamíferos domésticos. Los cetáceos se mueven en un medio con menor gravedad, lo que podría conllevar una regresión de estas cavidades. Por otro lado, Corpa et al., (2004) describieron el seno etmoidal y Racicot y Berta en 2013, el pterigoideo, que no hemos observado en nuestros especímenes estudiados. Hemos localizado en delfín listado algunos pequeños orificios en la pared frontal de la cavidad nasal ósea que claramente conecta la cavidad nasal con el seno maxilar; sin embargo, no sabemos si la mucosa nasal cierra estos orificios completamente o son orificios de vasos nutricios.

Confirmamos la asimetría bilateral, apoyando la tesis de que ésta sea directamente proporcional al tamaño de la presa (Macleod et al., 2007). No observamos el órgano vomeronasal en nuestras secciones anatómicas o secuencias de RM bajo la mucosa nasal y hueso vómer, por lo que también confirmamos la ausencia de olfato en estas especies a pesar de que en el cráneo del recién nacido de delfín listado apreciamos un hueso etmoides como la placa cribiforme de los mamíferos domésticos, por lo que creemos que es posible que la mucosa nasal esté presente. Rommel et al. (2009), hablan de cierta capacidad olfatoria de los cetáceos.

Órbita y globo ocular

En nuestro estudio, empleando el PET/SPEC/TC, fue posible observar en el feto más joven centros de osificación que no están fusionados en este estadio temprano. De acuerdo con estudios previos (O'Rahilly y Müller, 1987; Mead y Fordyce, 2009; Cozzi et al., 2017), en odontocetos (excepto en zifios), los huesos lacrimal y cigomático están fusionados formando el hueso lacrimocigomático, hecho que hemos confirmado en nuestro estudio, tratándose de una sincondrosis que será sinostosis. Como en los mamíferos domésticos, el hueso lacrimal está situado lateralmente con respecto al cigomático. En odontocetos, no hay borde infraorbitario óseo y la única estructura que camina debajo, ventral al párpado, es el nervio facial. En este estudio, se observó en disecciones y secciones anatómicas que la apófisis temporal del hueso cigomático mantiene la periórbita en su punto medio.

Sistema Nervioso Central

Las secuencias de RM del cerebro del feto más pequeño empiezan a diferenciar el diencéfalo y telencéfalo, aunque el tronco del encéfalo y el cerebelo están menos definidos. En el feto más desarrollado, las diferentes partes del tronco del encéfalo están mejor definidas, excepto el cerebelo. Además, hemos distinguido que el cerebelo y los hemisferios cerebrales se describen en delfines en estadios perinatales. Los ventrículos laterales y el acueducto del mesencéfalo se apreciaron en los tres especímenes estudiados. Tampoco en estos hemos observado el 4º ventrículo empleando secuencias de RM. Hemos encontrado que el tentorio del cerebelo comienza a osificarse durante el estadio fetal hasta que el proceso se completa en los odontocetos adultos; esto es diferente a los mamíferos domésticos, en los cuales permanece membranoso, excepto en los gatos (Nickel et al., 1986; Sandoval, 2000). Sugerimos que la explicación funcional para esto está relacionada

en ambas especies (felinos y odontocetos) en que necesitan un cerebelo bien sujeto debido a su actividad durante la natación/locomoción, saltos, escaladas, etc.

Oído

En la cavidad timpánica, vimos un canal musculotubárico semiabierto en el segundo feto, cuya abertura es el orificio timpánico localizado en la pared rostral del oído medio. Este se continúa con la trompa auditiva que se abre en el orificio faríngeo en la nasofaringe.

La trompa auditiva del recién nacido se pudo detectar en disecciones como un espacio dilatado óseo-mucoso junto a la lámina perpendicular del hueso palatino, que se extiende hacia el orificio faríngeo de la trompa auditiva (escotadura de Eustaquio) (Mead y Fordyce, 2009) donde se abre a la nasofaringe por el mismo orificio mencionado. Estamos de acuerdo con Houser et al., (2004) acerca de la existencia de una conexión con el oído medio (la trompa auditiva la observamos dilatada).

En nuestro estudio fetal, acabamos de encontrar cavidades aéreas junto al canal musculotubárico del oído medio, que podría ser un "pseudodivertículo" similar al del caballo, "bolsa gutural" o divertículo de la trompa auditiva (Sandoval, 2000; Cozzi et al., 2017), que formaría un rudimentario espacio osteomusculomembranoso o bolsa gutural, también localizada en cetáceos por debajo de la base del cráneo, conectando la cavidad timpánica con el orificio faríngeo de la trompa auditiva en la nasofaringe.

Laringe

En los especímenes fetales, apreciamos que la entrada de la laringe (pico de la laringe) está muy circunscrita y está formada por la punta rostral de los cartílagos epiglótico y aritenoides. Ambos cartílagos son muy alargados y están orientados dorsorrostralmente hacia las coanas y no deberían ser descritos como cartílagos cuneiformes (Rauschmann et al., 2016; Cozzi et al., 2017; Huggenberger et al., 2019) y tal vez sí como tubérculos corniculados (Sandoval, 2000). Los tubérculos corniculados son además eminencias mucosas que engloban a las apófisis corniculadas de los cartílagos aritenoides (Nickel et al., 1986; Schaller, 1992; Sandoval, 2000;), una característica no observada en los especímenes estudiados.

En las secciones anatómicas y disecciones, hallamos un timpanohioides cartilaginoso conectando el hueso estilohioides con la porción timpánica del hueso temporal, cuya función es sujetar la raíz de la lengua y la laringe a la base del cráneo en

los mamíferos domésticos (Sandoval, 2000) mientras que el tirohioides se fija a la apófisis paracondilar de la porción lateral del hueso occipital. Además, en los delfines estudiados, la punta caudal del tirohioides no se osifica hasta el nacimiento, de esta manera permanece en el adulto como en la ballena gris (Kienle et al., 2015).

Cavidad del cráneo

Tres fontanelas se detectaron en los especímenes estudiados: occipital, frontal y mastoidea (Mead y Fordyce, 2009) (esta última la más clara).

VI.6. RESULTADOS

Artículo 2

Estudio endoscópico de la nariz externa y la cavidad nasal

- Nariz externa

En el feto más joven hemos distinguido una protuberancia muy pequeña entre la frente y el melón. Se veía entre una línea semicircular (con forma de U) (rima de la nariz), ligeramente cóncava hacia el ángulo de la nariz, cerrándolo herméticamente. Hemos visto dos labios, el superior (caudal) junto a la frente y el inferior (rostral) junto al primordio del melón. El labio inferior era un poquito más prominente comparado con el superior, pero a medida que se desarrolla el feto ambos labios son prominentes. En un feto más desarrollado (4.5 meses) la epidermis de la nariz externa difiere de la epidermis de la frente, con un color diferente (ligeramente rosáceo) y con un claro borde de separación del labio superior y la epidermis de la frente. Este último labio, ahora prominente, estaba claramente dividido verticalmente por un surco supranasal. El labio inferior es indiviso y elevado debido a su contacto con el melón, el cual tiene un tono de piel similar al de la nariz. La rima de la nariz es ligeramente convexa. En el feto de calderón común, la nariz externa presentaba una pigmentación blanquecina que se extiende hasta el melón, mientras que la pigmentación del resto de la cabeza es gris oscura. La rima de nariz es ligeramente convexa y difiere de la prominencia del labio superior dividida por el surco supranasal. Los siguientes fetos mostraban las mismas características, manteniendo la separación del área de la nariz externa y melón. En el último feto de delfín común la despigmentación de la nariz y el labio superior permanece y desaparece la delimitación de la nariz y el melón con respecto al resto de la cabeza. El recién nacido de delfín común, mostraba una hiperqueratosis entre los dos labios y la parte derecha del labio superior impidiendo el

acceso del endoscopio. En el último espécimen estudiado, un juvenil de delfín listado, se vio que la nariz estaba herméticamente cerrada y con pigmentación uniforme. El labio superior estaba dividido en por un surco supranasal. La rima de la nariz estaba curvada hacia la comisura o ángulo de la nariz y presentaba muchos pliegues que dentro de la rima. El labio inferior era indiviso y prominente quedando junto al melón. Entre ambos labios nasales, hay estriaciones y un doble pliegue interno sellando los labios herméticamente.

- Cavidad nasal: vestíbulo

Para analizar el vestíbulo de la nariz se retrajo caudalmente la piel de la región frontal primero en el feto menor de delfín común y en los siguientes. Destacamos la porción membranosa del septo nasal entre los tapones nasales. La mucosa es de un color similar al de la epidermis, un poco más clara que los tapones nasales. Los pliegues vestibulares junto con la porción membranosa de septo nasal se adhieren a los tapones, cerrando el orificio herméticamente. Los divertículos de la nariz del feto ya algo más desarrollado, mostraba una mucosa con un tono blanquecino que era uniforme a lo largo de todo el vestíbulo. También, el orificio estaba abierto entre los "labios de mono o fónicos" (lo integran ambos tapones nasales y pliegues vestibulares). En el feto de calderón común, el color de la mucosa del vestíbulo difiere del tono grisáceo del interior de los labios. La mucosa del divertículo de la nariz permanece oscura y presenta pliegues. En los siguientes fetos de delfín común, la mucosa vestibular pasa del rosa, al gris y hasta el blanco y tiene pliegues grisáceos dispuestos en dirección dorsoventral. En el siguiente grupo de fetos de delfín común más desarrollados observamos unos prominentes tapones nasales, el septo nasal, unos pliegues bien definidos y una mucosa nasal grisácea, diferente del periodo fetal más temprano. La mucosa de ambos divertículos derecho e izquierdo crecían en anfractuosidad y los pliegues longitudinales eran más abundantes.

Al recién nacido se le diagnosticó una inflamación epitelial con hiperqueratosis local probablemente causado por una alteración congénita. Esto obstruyó la cavidad nasal derecha. Este espécimen tenía la porción membranosa del septo nasal muy espesa de tal forma que los tapones nasales apenas se apreciaban. Solamente el tapón nasal izquierdo y la mucosa dilatada del divertículo izquierdo se veían claramente.

En el juvenil de listado, la mucosa del vestíbulo estaba fruncida con estriaciones y se encontraba firmemente adherida al tapón nasal, septo y pliegues vestibulares. La mucosa de los divertículos presentaba numerosos pliegues longitudinales.

- Cavidad nasal: porción respiratoria y olfatoria

En esta parte de la cavidad nasal, las cavidades nasales fueron analizadas de superficie a profundidad. Esta fase del estudio comenzó con especímenes más desarrollados para permitir el paso del endoscopio. En la cavidad nasal, pudimos distinguir cuatro paredes: la caudal, una vez pasó el endoscopio: el tapón nasal; la pared rostral, ventral al tapón nasal y que contiene el receso incisivo (saco premaxilar). La pared lateral es la pared externa a ambas cavidades y finalmente, la pared medial, constituida por el hueso vómer, que separa ambas coanas.

El estudio comienza con un feto de 5,5 meses de gestación en el que los pliegues longitudinales de la mucosa continúan dispuestos verticalmente hacia el suelo de la cavidad nasal derecha. Girando el endoscopio rostralmente, visualizamos el receso incisivo más ancho y visible, y la mucosa tenía pocos pliegues, un aspecto aplanado y un color rosáceo según avanza el desarrollo. La mucosa de la parte más profunda del receso contenía pequeñas vesículas. También, en el fondo de la cavidad nasal, pudimos apreciar las coanas y la porción ósea del septo nasal. A diferencia del vestíbulo, la mucosa de las porciones respiratoria y olfatoria mostraban un color rosáceo en cada espécimen estudiado. Se apreció claramente la presencia de pliegues longitudinales y vesículas, así como pequeñas fositas en la mucosa junto a las coanas en el feto de delfín común de 8.5 meses de gestación. En el recién nacido, pudimos estudiar solamente la porción respiratoria izquierda de la cavidad nasal ya que la derecha estaba bloqueada y fue imposible introducir el endoscopio debido a la hiperqueratosis. La mucosa era de color grisáceo y los pliegues de la mucosa nasal estaban inflamados.

Estudio por RM de la nariz externa y la cavidad nasal

Para el estudio por RM se empleó primero el plano sagital con el fin de obtener una visión general de la cavidad nasal completa y posteriormente en tres planos coronales u horizontales a nivel del vestíbulo, receso incisivo y finalmente la región de las coanas.

Desde el espécimen más joven de delfín común el corte sagital nos permitió identificar la nariz externa con los labios y la rima de la nariz. El melón comenzando a desarrollarse se apreciaba hiperintenso en ambas secuencias de RM, T1 y T2. La cavidad nasal presentó un tejido mesenquimatoso ligeramente hipointenso en T1 e hiperintenso en T2. La sección coronal a nivel del vestíbulo nos permitió identificar el septo nasal ligeramente hipointenso a nivel del vestíbulo (L1) e hiperintenso en la porción respiratoria

(L2). Las cavidades nasales siempre se mostraron hiperintensas.

En el feto de cuatro meses de gestación, las secciones sagitales mostraban claramente la nariz externa. El tapón nasal se pudo ver ligeramente hiper/hipointenso en T1 y T2, y en la porción respiratoria hipointenso en T1 y T2. Los principales huesos que forman las paredes son más perceptibles con el mesénquima, especialmente el presfenoides, pero el hueso etmoides no fue tan claramente identificado.

En el calderón común, la RM mostró claramente la lámina perpendicular del hueso etmoides.

En el feto del delfín común de seis meses de gestación, identificamos el receso incisivo mediante RM. En las tres secciones también distinguimos los tapones nasales, el septo nasal (porciones ósea y membranosa) y el cartílago mesorrostral.

En un estadio más avanzado del desarrollo fetal entre los huesos frontal y el etmoides se encontró todavía mesénquima (no había osificación).

En el feto de delfín común de 10 meses de gestación, pudimos apreciar la luz del vestíbulo los divertículos nasal (saco vestibular) y accesorio (saco nasofrontal), ambos hipointensos en T1 y T2. También, los tapones nasales, los pliegues vestibulares y sus músculos asociados moderadamente hiperintensos en T1 e hipointensos en T2. La porción respiratoria y el receso incisivo estaban rodeados rostralmente por los músculos de los tapones nasales y caudalmente por los huesos incisivo y maxilar.

TC y reconstrucción tridimensional de la cavidad nasal ósea

Comienza el estudio tridimensional un feto y pudimos ver los principales huesos que forman la parte rostral de la cavidad nasal ósea (huesos incisivo, maxilar vómer). El cuerpo de los huesos presfenoides y etmoides se encontraban en estrecho contacto desde un estadio temprano del desarrollo, y solamente se pudieron distinguir separados empleando la RM. En un feto de delfín listado más desarrollado, mostramos los huesos frontales creciendo hacia el hueso etmoides incompletamente osificado. La pared rostral de la cavidad nasal, principalmente constituida por el hueso maxilar, se visualizó cerrándose hacia el hueso vómer. El hueso etmoides (fosa etmoidal) permanecía sin osificar y los huesos de la base del cráneo estaban totalmente separados. En un feto hembra de delfín común, la fosa etmoidal estaba sin osificar. El hueso frontal tenía proyecciones hacia el hueso etmoides. Las coanas mostraron áreas con falta de osificación. En otro feto de la misma especie más desarrollado, las paredes de las cavidades nasales,

cerca de las coanas, se estaban cerrando como la pared rostral, aunque todavía había áreas de mesénquima. En una fase más avanzada de gestación del delfín común, la pared rostral de la cavidad nasal estaba totalmente cerrada por el hueso maxilar, formando las paredes óseas en ambas cavidades a ambos lados del hueso etmoides. La lámina cribosa y las alas del hueso vómer se observaron incompletas. El recién nacido mostró la pared caudal de la cavidad nasal casi cerrada, con proyecciones óseas desde los huesos maxilar y frontal hacia el hueso etmoides. La lámina cribosa del hueso etmoides cerraba la parte derecha e izquierda de las cavidades. En el delfín adulto de listado, se realizaron tres secciones de la cavidad nasal y se observó la cavidad nasal ósea totalmente formada.

TC y reconstrucción tridimensional de la cavidad nasal

En uno de los fetos más pequeños de delfín común inyectamos una pequeña cantidad de silicona para poder obtener un molde y dilatar las cavidades para hacer la reconstrucción tridimensional. Dentro del vestíbulo ya pudimos distinguir que el divertículo de la nasal es bilateral. El divertículo accesorio no se visualizó tan claramente. También pudimos analizar el molde de la porción respiratoria y olfatoria de la cavidad nasal. En el feto de delfín listado procedente de Galicia se apreciaba el receso incisivo extendiéndose hasta la base del hocico. En el feto de calderón gris, en una vista lateral izquierda, pudimos distinguir el divertículo accesorio nasal, el cual era muy pequeño y orientado rostralmente. En el feto más desarrollado de delfín común observamos el divertículo nasal accesorio ventral al divertículo nasal izquierdo. En uno de los delfines listados adultos de Murcia vimos bien dilatado el divertículo nasal derecho e izquierdo, el accesorio, el receso incisivo y las porciones respiratoria y olfatoria de la cavidad nasal.

Estudio de la cavidad nasal empleando anatomía seccional y técnicas de disección

- Anatomía seccional

Las secciones sagitales se realizaron tanto en delfines listados juveniles y adultos. Las secciones coronales se realizaron en un recién nacido de listado abarcando toda la cavidad nasal. Las dos primeras secciones se localizan en el vestíbulo nasal mientras que las otras cuatro en las porciones respiratoria y olfatoria de la cavidad nasal.

A nivel del vestíbulo hemos podido ver muchos pliegues vestibulares, junto con los tapones nasales formando los "labios de mono o fónicos" encargados de la producción de sonido. También hemos observado músculos de la nariz externa, que permiten la apertura del labio caudal, el divertículo accesorio y el vestíbulo.

Las secciones coronales a nivel del vestíbulo mostraron los divertículos derecho e izquierdo y los tapones nasales junto al pliegue vestibular.

- Disecciones

Especímenes de delfín

Las disecciones se realizaron en un recién nacido de Ceuta y en dos adultos de Murcia. Tras retirar la nariz externa en el recién nacido, encontramos dorsalmente el divertículo nasal derecho y ventralmente el accesorio caudal al tapón nasal derecho. El tapón nasal derecho estaba obstruido y el izquierdo normal. También distinguimos las dos posiciones funcionales del tapón nasal izquierdo, abierto y cerrado, y las cavidades nasales divididas por el septo nasal. En una hembra adulta de listado embalsamada, el divertículo nasal derecho fue dilatado para entender mejor su tamaño y forma. En las siguientes imágenes, la pared rostral del divertículo se retiró para mostrar la mucosa oscura y ventralmente el tapón nasal cerrado y después abierto mostrando una porción menos pigmentada de la mucosa. En otra hembra adulta de listado sin preservar, se pudieron identificar los divertículos nasales derecho y accesorio. El tapón nasal estaba firmemente cerrado. En el interior de la porción respiratoria se apreció una mucosa de color oscuro.

Especímenes de équido

Las disecciones se realizaron en un feto de potro y dos adultos de caballo.

El vestíbulo del feto se observa en su posición anatómica mostrando el pliegue alar y el ollar (el falso ollar es la porción del ollar que se continua con el divertículo nasal) que es el orificio de entrada al vestíbulo de la nariz. Las disecciones muestran las diferencias entre la mucosa del divertículo nasal, vestíbulo, pliegue alar y porción respiratoria de la cavidad nasal.

Estudio histológico de la cavidad nasal

Delfín

La mucosa vestibular, específicamente su divertículo, es un epitelio escamoso estratificado, pigmentado y queratinizado. La base de tejido conectivo es normal y contiene pequeños vasos. El tapón nasal tiene un epitelio estratificado, estrecho y pigmentado con un estrato papilar ancho y aplanado. Tiene musculatura estriada con fascículos discontinuos. Su base de tejido conectivo es fuerte con fascículos musculares. La mucosa de la porción respiratoria tiene una disposición pseudoestratificada pero los cilios no se observaron. Se observó una base de tejido conectivo denso con escasas fibras

musculares y vasos sanguíneos (áreas blancas alargadas y vacías). La mucosa de la porción olfatoria tiene un epitelio pseudoestratificado (sin observar cilios) más desarrollado y ancho que la porción respiratoria. El estrato papilar es estrecho, vascularizado y con una base de tejido conectivo. Un epitelio escamoso estratificado caracteriza el receso incisivo. El estrato papilar es ancho con escasa vascularización. La base de tejido conectivo se ha visto que contiene algunos nervios.

Caballo

La mucosa vestibular de la cavidad nasal, específicamente su divertículo, es un epitelio escamoso estratificado, ambos pigmentados y queratinizados con pelo y con glándulas sebáceas asociadas. El estrato papilar no está bien definido. La base de tejido conectivo contiene algo de tejido adiposo. El pliegue alar tiene un epitelio escamoso estratificado no queratinizado. La base de tejido conectivo es amplia y densa. Hay grupos de glándulas entre las glándulas sebáceas. La porción respiratoria de la cavidad nasal tiene un epitelio pseudoestratificado constituido por una mucosa cilíndrica con cilios y una base cartilaginosa. La mucosa de la porción olfatoria es un epitelio pseudoestratificado pero los cilios no se han visto claramente.

VI.7. DISCUSIÓN

Artículo 2

Estudio endoscópico de la nariz externa y la cavidad nasal

Nariz externa

La información de la nariz externa de odontocetos y mysticetos adultos es a veces confusa, a menudo debido a la diferente terminología.

La técnica endoscópica para analizar la cavidad nasal nos ha permitido observar la nariz externa y la morfología de la cavidad nasal caudalmente hasta las coanas. Hemos observado una morfología altamente característica de la nariz de los cetáceos con las imágenes endoscópicas. La presencia de labios nasales (rostral y caudal) y su posición anatómica, cerrados desde el comienzo del desarrollo para evitar la entrada de agua y sal al interior de la cavidad nasal, es una de las primeras imágenes que prueban el desarrollo de dos prominencias en el labio caudal y su división por un surco medio proyectado desde el septo nasal hasta el labio caudal. Durante los primeros estadios del desarrollo fetal

hemos observado la nariz externa y el melón como un área anatómica común delimitada por una línea y cubierta por una epidermis más pálida que el resto de la cabeza. Apoyando a la función del melón en la proyección de los sonidos, están los "labios fónicos" (Pouchet y Beauregard, 1885; Cranford et al., 2011; Berta et al., 2014), esto apoya nuestra idea de que el melón forma parte de la nariz externa tanto anatómica como funcionalmente, y no es meramente una parte del complejo nasal.

Estos cambios en la morfología ayudarán a determinar los estadios fetales del desarrollo.

Las imágenes de RM y las disecciones nos permitieron observar que ambos labios rostral y caudal presentan músculos retractores que actúan abriendo la nariz para respirar cuando el animal emerge del agua. También hemos descubierto que el cierre de los labios es más hermético, lo que se traduce en una mayor impermeabilidad.

Cavidades nasales

Sugerimos que la cavidad nasal de los cetáceos debería ser denominada más propiamente como cavidad maxilar.

- Vestíbulo

En nuestra opinión esta zona anatómica no está completamente explicada en las publicaciones previas. La presencia de los dos divertículos de la cavidad nasal se muestra claramente en los estudios endoscópicos, reconstrucciones 3D, secciones y disecciones. El epitelio escamoso estratificado es similar al de la nariz equina y corrobora nuestra idea acerca de su función, que es la de protección frente agentes externos y el agua (Schenkkan, 1973; García de los Ríos et al., 2019). Los pliegues vestibulares muestran una mucosa muy diferente de la que se presenta en la región respiratoria, probablemente relacionado con la función propuesta de la producción de sonido. El molde de la cavidad nasal y las reconstrucciones volumétricas nos permitieron estudiar su morfología y localizar otros divertículos nasales accesorios que confirmamos por disecciones. Nuestro estudio del desarrollo muestra que el vestíbulo en delfín común, listado y ballena piloto es poco complejo.

En cuanto a los "labios fónicos o de mono", las partes dorsales de los mecanismos de la producción de sonido (Pouchet y Beauregard, 1885; Cranford et al., 2011; Berta et al., 2014) eran los pliegues vestibulares situados bajo el labio superior y en las partes ventrales estaban los tapones nasales divididos por la porción membranosa del septo nasal.

Los "labios fónicos o de mono" solamente se encargan de la producción de sonido proyectado hacia el melón. Los divertículos evitan la entrada de posibles filtraciones de agua a través del espiráculo que podrían haber entrado durante la producción de sonido, buceo o bajo situaciones de nerviosismo "estrés"; además los divertículos están muy alejados de los "labios fónicos". Los divertículos, son erróneamente denominados sacos aéreos (Schenkkan, 1971; Browers y Kaminga, 1990; Houser et al., 2004; Reidenberg y Laitman, 2008) porque solamente están presentes en las aves con el fin de disminuir el peso total durante el vuelo (McLelland, 1990). Es interesante observar que los pliegues vestibulares carecen de epitelio (son mucosa) y tienen un tejido conectivo y una base muscular que explicaría su función como generador de sonido.

- Porciones respiratoria y olfatoria de la cavidad nasal

Esta región que reparte aire hacia los pulmones está caracterizada por la ausencia de conchas o cornetes nasales y senos paranasales excepto el seno maxilar (García de los Ríos et al., 2019) el cual está ausente en el adulto. Parece que estas estructuras carecen de función olfativa en odontocetos, ya que nuestro análisis histológico no encontró epitelio olfatorio.

- Cavidad nasal ósea

Los huesos maxilares que forman la pared rostral son los primeros en formar, seguidos por los huesos frontales que se cierran lentamente hacia la base del cráneo, pero ellos solamente se osifican lentamente y se conectan con la lámina cribosa del hueso etmoides. El último hueso en osificarse es el hueso etmoides, lo que indica que es para permitir que pasen los nervios olfatorios y formen la lámina cribosa, incluso aunque el bulbo olfatorio sea vestigial en cetáceos y quede como un resto filogénico (Cave, 1988b; Klima, 1995). En el hueso vómer que crece lentamente en disección rostral se puede ver el surco sobre el cual se sitúa el cartílago mesorrostral. Los huesos que cierran ventralmente la cavidad nasal son el hueso pterigoideo y palatino (Klima, 1999). Los huesos etmoidales tienen un tiempo de osificación más lento y cierran la pared caudal de la cavidad nasal lo cual se observó más claramente en las reconstrucciones volumétricas. El molde de las porciones respiratoria y olfatoria mostraban dos cavidades curvadas caudalmente hacia la nasofaringe y rodeadas por los huesos arriba mencionados.

- Mucosa nasal

El estudio endoscópico de la cavidad nasal muestra por vez primera en etapas

tempranas del desarrollo una mucosa suave que forma pliegues longitudinales según progresa el desarrollo. El receso incisivo sirve para almacenar, junto con el saco vestibular (Lawrence y Schevill, 1956) escapes de agua desde el vestíbulo nasal los cuales se expulsarían cuando el animal emerge para respirar (García de los Ríos et al., 2019). El análisis histológico del vestíbulo nasal tenía características similares al divertículo nasal del caballo (Browsers y Kaminga, 1990). El núcleo esférico de las células sensoriales no se observó en la porción olfatoria confirmando la ausencia de función olfatoria.

- Hallazgos patológicos

El estudio endoscópico detectó una obstrucción del vestíbulo derecho de la cavidad nasal en el recién nacido varado en Ceuta con su madre y muerto posteriormente. El análisis patológico postmortem confirmó este diagnóstico. Empleando la endoscopia, se han detectado parásitos, pertenecientes principalmente a dos familias (Pseudaliidae y Prassicaudidae) y cuatro géneros (Halocercus, Pharurus, Pseudalius y Stenurus) (Dailey, 2001; Raga et al., 2009). Estas infestaciones a menudo no son diagnosticadas, junto con obstrucciones que pudieron llevar al varamiento a cetáceos neonatales. Cuando se realiza una necropsia, creemos que la endoscopia de la cavidad nasal debería estar incluida en los protocolos, con independencia de la dificultad de la técnica.

VI.8. RESULTADOS

Artículo 3

Cavidad bucal

La región bucal estaba integrada por el vestíbulo localizado entre los labios y los dientes, la cavidad propia de la boca. El límite dorsal es el techo, y el ventral estaba definido por la lengua y el suelo de la cavidad propia de la boca y el espacio prefenular.

La parte ósea del techo está constituido por las apófisis palatinas del maxilar e incisivo y de la parte ventral la mandíbula derecha e izquierda.

- Estudio endoscópico

En el primer feto de delfín común, el menos desarrollado, los labios fueron proporcionalmente mayores e inmóviles. La rima de la boca, como en el espiráculo, estaba fuertemente cerrada. El frenillo del labio superior e inferior encontraba ausente. El vestíbulo de la boca no estaba bien definido en este estadio de desarrollo. Las encías

de las mandíbulas se observaron más anchas que las del maxilar. El paladar duro continuaba formándose. No se apreció una papila incisiva. La lengua era corta, ancha y sin papilas.

En los dos siguientes fetos de ésta especie, se observó el vestíbulo labial pero no el vestíbulo bucal. El paladar duro tenía un rafe palatino medio en todas las especies estudiadas, y solamente en delfín común se apreció a ambos lados del rafe palatino medio dos surcos paralelos. Se observó la papila incisiva en la parte rostral del paladar duro. Las papilas marginales se extendían desde los bordes hasta la mitad de la lengua. El dorso de la lengua era suave con un surco central casi indistinguible. En la cavidad propia de la boca, había dos recesos sublinguales laterales, con un pliegue sublingual lateral que se engruesa rostralmente.

En el que estaba más desarrollado de los dos, los pliegues sublinguales laterales eran muy finos. La cara ventral de la lengua tenía un frenillo lingual simple. En el espacio prefenular no se observaron carúnculas sublinguales. Las encías eran largas y suaves.

En el feto de listado varado en Galicia el paladar duro mostraba el rafe palatino y la papila incisiva era de mayor tamaño que en el segundo de los fetos de delfín común.

En el feto de calderón común el paladar duro tenía un profundo rafe del paladar y la papila incisiva era más grande que en otros fetos. Las papilas marginales se extendían desde la punta de la lengua hasta casi la raíz. Las encías estaban cubriendo los dientes en ambas arcadas dentarias. Los dientes se mostraban bien diferenciados a los 5 meses de gestación. El frenillo lingual era más fino que en otros fetos y también los pliegues sublinguales laterales eran finos aunque sus extremos rostrales comenzaban a engrosarse.

En un feto de delfín común hacia la mitad de la gestación, se observaron las papilas marginales extendiéndose desde la punta a la mitad de la lengua, y los pliegues sublinguales laterales se engrosaban progresivamente a lo largo de su longitud.

En otro feto de delfín común próximo al nacimiento, los dientes de la arcada superior estaban bien desarrollados, a diferencia de los de la arcada inferior. Además, los pliegues sublinguales laterales se encontraban bien dilatados.

En el recién nacido de ésta misma especie, todos los dientes estaban cubiertos por las encías. La erupción de los dientes se pudo ver en los recién nacidos mayores de delfín listado, donde los dientes más caudales comenzaban a erupcionar, pero los más rostrales estaban cubiertos por las encías y los dientes incisivos no se encontraban bien

desarrollados. También, las papilas marginales se presentaban bien desarrolladas y decrecían progresivamente hacia la raíz de la lengua.

- Estudio por RM

La imagen de RM potenciada en T2 de la cavidad bucal del delfín común de 8 meses de gestación aproximadamente mostró que el hueso maxilar era moderadamente hiperintenso con respecto al paladar duro. La mucosa superficial de la lengua era ligeramente hiperintensa con respecto al músculo depresor, protractor y retractor de la lengua. Una capa hiperintensa bajo los músculos de la lengua podría deberse probablemente al alto grado de irrigación o quizás a la presencia de grasa de estos músculos. Observamos que los dientes no erupcionados se pueden apreciar bajo las encías.

- Estudio histológico

La papila incisiva vestigial presentó un epitelio pseudoestratificado queratinizado. No se vieron conductos llegando a la papila ni el órgano vomeronasal en el feto de delfín común más desarrollado. En la dermis se observaron abundantes vasos linfáticos. Los dientes en desarrollo se han visualizado cubiertos por las encías. La estructura histológica de los dientes mostró internamente la dentina, cubierta por el esmalte y todas las partes (corona, cuello y raíz) a su vez por cemento. Los pliegues sublinguales laterales tenían una mucosa con abundantes vasos y glándulas mucosas, sin embargo, no se observaron ni carúnculas sublinguales ni el órgano orobasal.

Los pliegues sublinguales laterales mostraban un epitelio pigmentado en su estrato basal. La lengua presentó una base de músculo estriado y se apreciaron abundantes glándulas mucosas subepiteliales, junto con sus conductos secretores.

En un adulto de listado, la papila incisiva mostraba un estrato papilar bien desarrollado. La dermis contenía abundante tejido adiposo y restos de conductos epiteliales en regresión. El receso sublingual lateral tenía un epitelio queratinizado con glándulas mucosas y un estrato papilar bien desarrollado.

Cavidad faríngea

La faringe es una cavidad musculomembranosa dividida en tres partes: la orofaringe, la nasofaringe y la laringofaringe. La laringofaringe conecta la cavidad bucal con el estómago y permite que la entrada de la laringe se introduzca en la nasofaringe, solamente en cetáceos, atravesando el orificio intrafaríngeo.

El techo óseo de la orofaringe lo integran el hueso palatino y las láminas del hueso pterigoideo lateral y medial. Además, la nasofaringe está delimitada dorsalmente por las alas del vómer y la lámina medial del hueso pterigoideo. Ventralmente, el aparato hioideo fija la raíz de la lengua y la laringe a la base del cráneo.

Estudio de la orofaringe, nasofaringe y laringofaringe

La orofaringe comienza en el istmo de las fauces, continúa por las fauces (un conducto) y finaliza en la cara lingual del cartílago epiglótico.

- Estudio endoscópico

El estudio endoscópico que comienza en la orofaringe, mostró un istmo de las fauces fuertemente cerrado en el segundo feto de delfín común menos desarrollado y el endoscopio no pudo atravesar este paso.

El endoscopio pasó hacia las fauces en el siguiente feto más avanzado en gestación mostrando una mucosa brillante. No se observó tejido linforreticular en el suelo (lengua), paredes (arcos o pliegues palatoglosos) o techo (paladar blando) de las fauces. El paladar blando se fijaba a la cresta ventral formada por las láminas lateral y medial de los huesos pterigoideos. Los arcos o pliegues palatoglosos conectaban el paladar blando a la raíz de la lengua. Al final de las fauces, una suave vallécula se continuaba dorsalmente con la cara lingual de la mucosa del cartílago epiglótico. A este nivel, dorsalmente se observó el orificio intrafaríngeo que permite la entrada de la laringe dentro de la nasofaringe. Además, la laringofaringe comienza con los recesos piriformes a ambos lados de los cartílagos laríngeos. El receso piriforme izquierdo era más ancho que el derecho. El amplio vestíbulo esofágico es caudal a los recesos cuya mucosa está formando pliegues longitudinales que cambiaban a pequeños pliegues cuadrangulares en el límite faringoesofágico.

Tanto los fetos de listado como en el de calderón común tenían bien desarrollada la mucosa en el istmo y solamente en el estrecho pasaje hacia las fauces tenía una mucosa lingual pálida y de color marrón/gris en sus paredes y techo.

Unas fauces mejor definidas se observaron en un feto de delfín común hacia la mitad de la gestación y también un receso piriforme izquierdo más amplio, con pliegues longitudinales.

En el siguiente feto pasada ya la mitad de la gestación, el endoscopio pudo pasar hasta las coanas para observar la nasofaringe y el orificio faríngeo de la trompa auditiva.

La mucosa de la orofaringe era más gruesa, los pliegues longitudinales en los recesos piriformes de la laringofaringe eran finos, y se observó una clara diferencia entre la mucosa del vestíbulo esofágico y el esófago.

En un estado más avanzado de gestación (8 meses aprox.), la mucosa de las fauces continuaba engrosándose y tenía un aspecto brillante. Además, en la nasofaringe, la mucosa evidenciaba pliegues longitudinales y pequeñas aberturas rodeando el orificio faríngeo de la trompa auditiva.

En un delfín juvenil, observamos la mucosa rosácea de la nasofaringe con pliegues longitudinales, pero los pequeños agujeros tenían una menor definición en sus bordes.

- Estudio histológico

Los resultados histológicos muestran que la epidermis de la orofaringe a nivel del paladar blando tenía un apretado estrato papilar con unas glándulas mucosas profundas y unas abundantes glándulas mucosas en su submucosa. Además, a nivel del istmo de las fauces, histológicamente mostró un profundo estrato de tejido conectivo hasta la epidermis, conteniendo muchas glándulas mucosas profundas. En la nasofaringe se observó una mucosa respiratoria con un estrato papilar anfractuoso, bajo el cual había un amplio estrato de tejido conectivo, y finalmente unas glándulas serosas profundas junto al músculo estriado. Adicionalmente, hemos localizado corpúsculos de Vater-Pacini junto al conducto auditivo entre el músculo estriado. No se observó tejido linforreticular.

- Estudio por RM

Las imágenes sagitales de RM mostraron la cavidad faríngea en el feto de calderón común y pudimos apreciar que las fauces en la orofaringe, la nasofaringe y el vestíbulo esofágico eran hipointensos en ambas secuencias potenciadas en T1 y T2. Las secuencias coronales potenciadas en T1 y T2 evidenciaron el receso piriforme junto a la laringe.

Estudio especial de la nasofaringe y el divertículo faríngeo de la trompa auditiva

1. Estudio por RM

Por RM, pudimos apreciar, en estadios fetales tempranos, una estructura bilateral denominada cada una de ellas como divertículo faríngeo de la trompa auditiva. Estaban conectados a través del canal musculotubárico con el oído medio (hueso temporal: porciones petrosa y timpánica). En el tercer feto menos desarrollado de delfín común (

unos 4 meses), se apreció en secciones sagitales como un área hiper/hipointensa vista caudal y rostral, respectivamente y también en secciones coronales.

En fetos mayores, este doble espacio a ambos lados de la laringofaringe era más evidente y presentó la misma intensidad, pero el área vascular (hiperintensa) y el área llena de aire (hipointensa).

En un estadio fetal más avanzado, es posible observar áreas con aire (hipointenso) y vasculares (moderadamente hiperintenso), e incluso la trompa auditiva (ligeramente hipointenso).

El divertículo de la trompa auditiva se veía claramente en las secciones coronales y sagitales en el feto de calderón gris. Las secuencias potenciadas en T2 son más claras que las T1 porque diferencian dos áreas: ligeramente hiperintensa (vascular) e hipointensa (aire).

2. Estudio histológico

El análisis histológico del divertículo de la trompa auditiva tenía dos áreas bien definidas en su interior: un plexo vascular faríngeo con un abundante y dilatado endotelio vascular y un área con un epitelio respiratorio en contacto con el aire. Una imagen detallada reveló la luz de los vasos llenos de sangre. La pared del divertículo de la trompa auditiva estaba llena de aire, el cual estaba en contacto con el epitelio respiratorio.

3. Estudio anatómico

c1) Osteología

El divertículo de la trompa auditiva es un área bien delimitada, incluso en los estadios más tempranos del desarrollo fetal. Esta área encontraba extendida medialmente hacia las coanas óseas y dorsalmente hasta la fosa maxilopalatina, medialmente hasta el receso pterigopalatino (pterygoid sinus) y rostralmente a la porción petrosa y timpánica del hueso temporal (cóclea).

c2) Anatomía seccional

Las tres secciones coronales, en el macho recién nacido de listado, se extienden desde el suelo hasta el techo de las cavidades bucal y faríngea. En estas imágenes fue posible observar la proximidad al tejido del canal de la mandíbula y los orificios de la trompa auditiva atravesando los músculos faríngeos. Es fácil diferenciar medialmente la zona aérea (junto a la trompa auditiva y nasofaringe y lateralmente al área cribiforme).

Las dos secciones sagitales en uno de los juveniles de listado se realizaron

parasagitalmente a nivel del oído. Indicaron que esta área del divertículo faríngeo de la trompa auditiva se extendía rostralmente al oído interno y medio cruzando bajo los huesos de la base del cráneo hasta llegar al receso pterigopalatino (seno pterigoideo) y finalizaba dorsalmente en la fosa maxilopalatina.

En el adulto de listado, el orificio faríngeo de la trompa auditiva se canalizó con un trocar y el divertículo faríngeo de la trompa auditiva se topografía ventralmente. La imagen alargada permitió ver, tras retirar los músculos faríngeos, la trayectoria de la trompa auditiva hacia el divertículo faríngeo.

c3) Anatomía seccional

Una disección profunda en un recién nacido de listado evidenció la extensión del divertículo faríngeo de la trompa auditiva.

VI.9. DISCUSIÓN

Artículo 3

Cavidad bucal

- Vestíbulo

En cetáceos, que carecen de carrillos y, por consiguiente, del músculo masetero durante el desarrollo (García de los Ríos et al., 2021), solamente el vestíbulo labial está presente.

En los cetáceos, los labios están firmemente sellados, por lo que la boca está herméticamente cerrada como el espiráculo. El vestíbulo labial es único en cetáceos debido a la falta de vestíbulo bucal y es diferente de los mamíferos terrestres.

- Cavidad propia de la boca

a) Techo

La parte rostral del paladar duro solamente presenta una papila incisiva vestigial. Desde la ontogenia se considera la filogenia, los conductos están más formados en estadios tempranos del desarrollo y degeneran a medida que progresa la gestación. La inervación observada en la papila incisiva está probablemente relacionada con la sensibilidad táctil que sirve para comprobar el estado de la mucosa de algunas presas. Esta sensibilidad es recogida por el nervio palatino mayor procedente del ramo maxilar del nervio trigémino.

b) Lengua

Las papilas linguales en el calderón común, un teutófago que se alimenta por succión (Werth, 2007), pueden permitirle su estrategia de alimentación específica. Sin embargo, las papilas linguales de delfín listado y común no se extienden caudalmente, y estas desaparecen a medida que el animal madura (como en los mamíferos terrestres).

La regresión de las papilas puede deberse al tipo de alimentación adulta y con un periodo largo de lactancia, 19-20 meses en delfines listado y común y 24 meses o incluso más en calderón común (Cozzi et al., 2017).

- Consideraciones histológicas

Confirmamos, como (Sokolov y Volkova, 1973; Cozzi et al., 2017;) que indican la presencia de glándulas mucosas y seromucosas linguales en el delfín común, la presencia de glándulas mucosas en la lengua del adulto de listado, así como en el esófago. También, hemos observado glándulas mucosas en el feto de delfín común. El abundante número de glándulas mucosas tiene una doble función: lubricante y protectora al igual que en la orofaringe. Además, la ausencia de glándulas salivares explica la abundancia de glándulas mucosas como un sustituto.

En relación con el sistema inmunitario, el gran número de vasos linfáticos explica la ausencia de formaciones nodulares (tonsilas y nódulos) que, en cetáceos, podrían comprometer la deglución.

Los pequeños surcos (lengua) pueden ser la localización de los hasta ahora desvelados receptores gustativos (Sokolov y Volkova, 1973). No hemos localizado receptores gustativos o del olfato ni en la cavidad bucal ni en la nasal (García de los Ríos et al., 2021).

c) Suelo de la cavidad propia de la boca

Los recesos sublinguales y vestíbulo labial son poco profundos, tal vez debido a la ausencia de masticación, la cual anula la necesidad de un espacio funcional fuera de la cara vestibular del diente (Cozzi et al., 2017).

Vimos la estrechez de los vestíbulos labiales y recesos sublinguales durante el desarrollo fetal. No hemos observado ni conductos para el transporte de saliva ni carúnculas sublinguales.

Las glándulas salivares monostomáticas están ausentes en los cetáceos (García de los Ríos et al., 2021). No hemos observado en el estudio histológico los estomas

abiertos a lo largo de los pliegues sublinguales laterales (glándula sublingual polistomática) ni los conductos sublingual mayor y mandibular, atrofiados estos últimos en los cetáceos.

Aunque la boca es una abertura hermética, cuando el delfín se alimenta bajo el agua, la entrada de agua marina es inevitable, pero será expulsada posteriormente por la lengua. En un medio ambiente húmedo, la saliva es innecesaria.

d) Dientes

La formación de los dientes ocurre bajo las encías (García de los Ríos et al., 2021). La erupción final se lleva a cabo durante el periodo perinatal tras el periodo de lactación (esto, junto con el poco desarrollo de los dientes incisivos, protegen los pezones maternos), probablemente debido al raspado de las encías contra la superficie rugosa de los alimentos.

Por primera vez, hemos descubierto que los dientes, durante el desarrollo, están cubiertos por cemento bajo las encías. Hemos establecido que los dientes de los odontocetos están filogénicamente más cerca de la dentición hipsodonta de los rumiantes y équidos, en los cuales los dientes presentan cuerpo y raíz como sigue: en el centro la dentina (capa interna) y recubierto externamente por esmalte, el cual, a su vez, lo está por cemento.

Cavidad faríngea

Durante el desarrollo fetal, hemos observado que el paladar blando de los odontocetos está sujeto caudalmente a lo largo de la cresta del hueso pterigoideo.

El istmo de las fauces está firmemente cerrado, como pasa con el espiráculo (García de los Ríos et al., 2021). Hasta el nacimiento, ni la orofaringe ni el esófago se abren hasta que el alimento se traga, aunque puede ser abierta durante la gestación para permitir el paso de líquido amniótico dentro del canal alimentario del feto para estimular a las glándulas la producción de enzimas gástricas (Dold y Ridgway, 2007; McGeedy et al., 2017).

1. Consideraciones histológicas

- Nasofaringe

El orificio faríngeo de la trompa auditiva es una abertura de un conducto membranoso cerca de los músculos faríngeos, se conecta con el canal musculotubárico

y termina abriéndose al orificio timpánico de la trompa auditiva.

El receso pterigopalatino (seno pterigoideo) no está aislado, sino que está conectado al divertículo faríngeo de la trompa auditiva a nivel de la escotadura de la trompa auditiva (Mead y Fordyce, 2009). No hemos considerado el receso pterigopalatino como un espacio aislado del divertículo de la trompa auditiva, por el contrario, si como parte de esta.

El hecho de que la trompa auditiva no sea un conducto cerrado pero que se dilata y pliega según la presión, tiene su aplicación en la descompresión. Esta teoría se puede reforzar por el hecho de que los corpúsculos de Vater-Paccini son receptores de presión observados en la mucosa de la nasofaringe junto al orificio faríngeo de la trompa auditiva.

Esto prevendría el colapso de la tráquea y las paredes respiratorias mientras simultáneamente aseguran que el aire a grandes profundidades es distribuya hacia áreas esenciales.

La sangre presente en el divertículo puede tener una doble función de refrigeración y reservorio extra de oxígeno, permitiendo el intercambio con los vasos sanguíneos en parte del epitelio y dentro de los senos.

2. Anatomía comparada

En odontocetos, el divertículo se extiende solamente hasta el receso pterigopalatino (seno pterigoideo) y medialmente hasta el hueso pterigoideo. Ambos divertículos están separados por un hueso en odontocetos, por lo tanto, la entrada hacia laringe no está interrumpida a este nivel.

3. Consideraciones histológicas

Las glándulas serosas profundas observadas en la nasofaringe secretan hacia las pequeñas aberturas observadas en el área más profunda de la cavidad nasal (García de los Ríos et al., 2021) y hacia los pequeños orificios observados en el área de la nasofaringe cerca del orificio faríngeo de la trompa auditiva. Junto a estos orificios, se observó un corpúsculo de presión. Esto posiblemente indique que, cuando el plexo vascular observado en el divertículo faríngeo de la trompa auditiva está lleno de sangre, este proceso provoca la expulsión del aire almacenado hacia la trompa auditiva dentro de la nasofaringe. La presión del aire dentro de la nasofaringe es detectada por los corpúsculos de Vater-Paccini.

VI.10. CONCLUSIONES

- No se observaron nódulos linfáticos ni glándulas salivares durante la etapa del desarrollo en las cabezas de delfín. Hemos encontrado glándulas mucosas en las cavidades bucal y faríngea, con una doble función: la protección mecánica y la lubricación. Por el contrario, en la nasofaringe hemos encontrado corpúsculos de presión y glándulas serosas para humedecer el área.
- La fusión entre los huesos lacrimal y cigomático se observó en el feto menos desarrollado. La apófisis temporal del hueso cigomático se ha descrito sujetando la periórbita en el feto de delfín. La fusión entre los huesos etmoides y presfenoides se observó en uno de los fetos. La lámina cribosa del hueso etmoides es el último hueso en osificar en la cavidad nasal en un espécimen recién nacido. Las estructuras anatómicas óseas fueron correctamente identificadas, tal como los huesos presfenoides y etmoides.
- El estudio endoscópico de la anatomía del feto permitió observar simultáneamente el desarrollo del melón y la nariz externa. También hemos visto que la forma y función de la nariz externa se observa formada por dos labios cerrados muy simples durante el desarrollo fetal y muy sofisticado durante el estadio adulto. El vestíbulo mostraba los "labios de mono", dos divertículos y dos recesos incisivos y pliegues longitudinales en las porciones olfatorias y respiratorias de la cavidad nasal. Las endoscopias de la cavidad bucofaríngea serían útiles para destacar alteraciones en estructuras anatómicas a estos niveles, que puedan provocar muertes.
- Las reconstrucciones tridimensionales de los espacios aéreos y de la cavidad nasal ósea nos permitió obtener una representación espacial durante el desarrollo de la cavidad nasal y confirmó nuestras observaciones endoscópicas. También las secciones anatómicas y disecciones ayudaron en nuestra identificación de estructuras vistas en los estudios endoscopios, de TC y RM.
- El análisis histológico confirmó la similitud de la mucosa nasal del caballo y del delfín. Los hallazgos patológicos mostraron una hiperqueratosis en el vestíbulo y deberían tenerse en cuenta durante las necropsias de delfines varados. El

análisis histológico también reveló que no se detectaron células olfatorias en la cavidad nasal.

- La retracción de los huesos nasales, la posición vertical de las cavidades nasales y las especiales paredes óseas, nos llevan a recomendar que la cavidad nasal debería denominarse cavidad maxilar, ya que estos huesos cierran estas cavidades en delfines como los huesos nasales lo hacen en los mamíferos domésticos.
- El vestíbulo nasal contiene diferentes cavidades similares al divertículo de la nariz que es descrito en caballos. Los divertículos de los cetáceos funcionan como reservorios de agua y protección contra agentes externos. Los pliegues vestibulares son comparables a los pliegues alares descritos en el caballo.
- Los dientes en desarrollo muestran tres capas debajo de la encía, se desarrollan durante el periodo fetal y erupcionan a través de la encía tras la lactación. Los dientes más rostrales están ausentes durante el periodo perinatal, ayudando durante la succión de leche para proteger las papilas mamarias. Además, hemos observado la ausencia o atrofia del músculo masetero, principalmente debido a la presencia de tejido adiposo mezclado con fibras musculares en su posición anatómica y también porque los delfines tragan sus presas y no mastican.
- La lengua morfológica y funcionalmente presenta unas papilas marginales que desaparecen progresivamente tras la lactación, permaneciendo algo más en algunas especies como el calderón común.
- En la laringofaringe, hemos observado que el receso piriforme izquierdo era más grande que el derecho, probablemente para permitir en dicho lado el paso de grandes presas.
- En la nasofaringe, uno de los hallazgos de este estudio fue encontrar y visualizar por primera vez, el divertículo de la trompa auditiva desde etapas tempranas del desarrollo fetal empleando RM y disecciones en cabezas de fetos. Este espacio "divertículo faríngeo de la trompa auditiva" se extiende rostródorsalmente desde el oído hasta la nasofaringe, contiene aire y un plexo vascular, similar a aquellos mamíferos que poseen dicha estructura. Este "pseudo-divertículo" similar a la "bolsa gutural" se ha observado conectando la cavidad timpánica (oído medio) con la nasofaringe en las secciones anatómicas (del feto).

EXTENDED SUMMARY

VII. EXTENDED SUMMARY

VII.1. INTRODUCTION

The first specific cetacean anatomical studies took place during the XIX Century (Carte and Macalister, 1868; Beauregard, 1882; Collet, 1886. Pilliet et Boulart, 1895), detailed pioneer jobs with accurate illustrations. Yet later studies, passed the 20th Century, appeared the embryological studies (Schulte, 1916; Ridewood, 1922; Eales, 1950), going deeper in the cetacean development, and years later well completed with evolution aspects (Numella et al., 2007; Thewissen y Cooper., 2009). The embryological studies improved with the opening of oceanariums, in which they could proceed to the control and monitoring of pregnant females even when giving birth. Also contributing to the odontocetes development, we have the underwater filming technologies improvement, as well as the growing of the stranding networks, showing more and more efforts along the coasts of most of the countries.

Many studies about the cetacean development use specimens from museum collections (Schenkan, 1973; Thewissen et al., 2006; Huggenberger et al., 2009) which keep embryos and fetuses whose origin is the investigation campaigns that took place during the XIX century and beginning of the XX, and in modern times found by the stranding nets that receive calls or make active searching along the beach.

With the available samples, they got to know data such as the gestation period, size at birth, growing curves, etc. (Lacave et al., 2004; Danil and Chivers, 2007; McFee, 2009)

as well as the external morphological features such as tactile hair and uterine folds (Berta et al., 2015) amongst others, but with no doubt, what has contributed the most to the detailed knowledge of the inner anatomy during the different embryological and fetal developmental stages, has been the technology advance in terms of image diagnosis, to the point that, without the use of endoscopy, computed tomography (CT), and magnetic resonance imaging (MRI) - supported by histology and several anatomical tools (dissection, sectional anatomy, corrosions, anatomical casts and plastination), the referred anatomical changes would have been impossible to show up. These techniques have allowed us to highlight, during the ontogenic period and postnatal development, different anatomical modifications inside the body cavities (Sterba et al., 2000; Thewisen and Heyning, 2007; Reidenberg and Laitman, 2009; Cozzi et al., 2017), specially at cranial level, from the ossification of the skull bones and formation of the nasal cavity to the eruption of the teeth inside the oral cavity or the inner and medium ear ossification (Liste et al., 2006; Rauschman et al., 2006).

The objective is to perform a descriptive study of the head in general, and later on the oral, pharyngeal and nasal cavities, in particular, but we try to continue and go ahead with the encephalic cavity and the development of the skull bones, eye, ear, muscles and caudally the thoracic, abdominal and pelvic cavities using endoscopy, CT, MRI, as well as different anatomical and histological techniques.

We trust in the fact that, these new techniques can be applied in any study of this type performed from now on, either with existing samples or with new specimens stranding in the future, so a pregnant female stranded dead was not in vain and it can be obtained as much information as possible for the benefit of all those vets working in oceanariums, rehabilitation centers, etc. and this can have effect on the conservation of these wonderful animals.

VII.2. OBJECTIVES

1. To obtain MR and CT images in the three-dimensional planes of the head to correlate them with anatomical sections (articles 1, 2 and 3).
2. To apply the endoscopy technique at the level of nasal and buccopharyngeal

cavities in order to analyse its mucosa and observe its anatomical structures "in situ" (articles 2 and 3).

3. To review the anatomical terms wrongly used in the scientific literature and cite them the right way according to the veterinary anatomical nomenclature. (Articles 1, 2 and 3).

4. To include histological and anatomical (dissection, anatomical sections, latex injection) techniques and three-dimensional reconstruction to get a better information of the anatomical structures during prenatal development (articles 2 and 3).

5. To perform compared anatomy studies with different species and stages (articles 2 and 3).

6. To establish anatomical bases that serve as reference to future studies about the development and help the professionals working with cetaceans. (articles 2 and 3).

VII.3. MATERIALS AND METHODS

For the present study 30 specimens of dolphins and 4 of equids were used. Amongst the cetaceans, 5 species in total: Striped dolphin (*Stenella coeruleoalba* M.), Common dolphin (*Delphinus delphis* L.), Pilot whale (*Globicephala melas* T.), Risso's dolphin (*Grampus griseus* C.) and Common Porpoise (*Phocoena phocoena* L.), of which 18 were fetuses, 5 newborns, 2 juveniles and 5 adults covering a size range going from 11,8 and 204 centimetres. All of them were stranded in Spanish coasts, either Atlantic (Galicia), Mediterranean (Valencia, Murcia) or Strait of Gibraltar (Ceuta).

Article 1

A total of 6 pre- and post-natal specimens plus one adult were used in this study, all belonging to the specie (*Stenella coeruleoalba*, Meyen 1833). The mother and the youngest fetus were found at the Atlantic Galician coast. The mother of the oldest fetus stranded at the Mediterranean coast. All of them stranded dead so the Ethic committee was not necessary. The following techniques were performed:

CT using:

- Positron Emission Tomography (PET), Single Photon Emission, Computed Tomography (SPECT)-Computed Tomography (CT) (PET/SPECT/CT Albira TM Systems at the Center of Biomedical Investigation, University of Murcia, Spain.
- Philips Medical System Intera,, Eindhoven, The Netherlands; at the Clinic Virgen de Africa, Ceuta, Spain
- General Electric HiSpeed, General Electric Healthcare, Madrid, España; At the Veterinary Clinic Hospital, University of Murcia, Spain.

All the images were transferred to DICOM workstation and analysed with Radiant DICOM viewer and Osiris 4.0 for Windows.

MRI: using:

- General Electric Sigma Excite, Schenectady, NA, USA; de Image Diagnosis Veterinary Center of Levante, Ciudad Quesada, Alicante, Spain.
- Philips Medical System Intera, Eindhoven, The Netherlands; Radiologic Clinic, Ceuta, Spain.

The images were also transferred to DICOM workstation and analyzed with Radiant DICOM viewer and Osiris 4.0 for Windows.

For the anatomical evaluation, all the samples were stored either in formaldehyde (10%), in a balsamic solution (formaldehyde, glycerine, isopropyl alcohol and phenol) or frozen right away at temperatures of -20 and -80 °C.

Finally, for dissections, the tissues were carefully removed from superficial to depth, in order to reveal the anatomical structures such as the melon, the four venous draining, several mandible depressor muscles, the tongue muscles and the external acoustic meatus.

Article 2

In this study there were used 16 prenatal, 3 perinatal, 2 juveniles and 4 adults belonging to 3 different species: Striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), Common dolphin (*Delphinus delphis*), Pilot Whale (*Globicephala melas*) plus 4 equids (*Equus caballus*).

All of them were stranded in Spanish coasts, either Atlantic (Galicia) or Mediterranean (European and African) and the hoses came from Orihuela's

Slaughterhouse, so the Ethic Committee was not necessary.

The endoscopies, (performed all of them at the veterinary clinic of Bonafé, la Alberca, Murcia), was the main technique, using a fix unity (Karl Storz Autocon 200, Tuttlingen, Germany).

As for the MRI, the machine was General Electric Medical Systems-HiSpeed dual, Schenectady, NA, USA; At the Image Diagnosis Veterinary Center of Levante, Ciudad Quesada, Alicante, Spain.

All the images were transferred to DICOM workstation and analyzed with Radiant DICOM viewer and Osiris 4.0 for Windows.

As for the CT, it was used Positron Emission Tomography (PET), Single Photon Emission, Computed Tomography (SPECT), Computed Tomography (CT) (PET/SPECT/CT Albira™ Systems at the Biomedical Investigation Center, University of Murcia, Spain, and General Electric Medical Systems-HiSpeed dual, Schenectady, NA, USA; At the Veterinary Clinic Hospital, University of Murcia. All the images were transferred to DICOM workstation and analyzed with AMIRA for Fei Systems 5.6. Volume rendering was generated to obtain 3D images after injecting the Silicone 191 Xiameter © RTV-4230-E Base.

Other samples were frozen at -46 °C and -20 °C. The head cuts and sections were immersed in a 10% de formaldehyde solution and stored in a cool chamber at 5 °C at the Anatomy and Embryology Department of the Veterinary School of Murcia, Spain.

The histological analysis was performed as follows: with the paraffin block, the samples were cut in slices and stained with Hematoxiline-Eosine and later pictured with a computerized microscope Zeiss Axioskop 40, Jena, Germany with an attached Insight 2 AxioCam 105 colour camera.

Article 3

In this last study were used 24 odontocetes belonging to 5 species of dolphins (striped, *Stenella coeruleoalba*; common, *Delphinus delphis* ; pilot whale, *Globicephala melas* ; Risso's, *Grampus griseus* and porpoise, *Phocoena phocoena*) of all ages to perform different diagnose techniques in all of them: endoscopy (16 fetuses and 1 juvenile), MRI (8 fetuses), dissections (1 newborn), anatomical sections (1 newborn, 1

juvenile and 1 adult) and histology (the same adult used for anatomical section and 1 newborn).

All the animals were stranded dead in both Atlantic and Mediterranean Spanish coasts so the Murcia University Ethic Committee permission was not necessary.

Endoscopy

For the study a rigid optic (Karl Storz Autocon 200) was used at the veterinary clinic of Bonafé, la Alberca, Murcia. A rigid endoscopy (0°, 4 mm diameter and 14 cm length) was used for the oral, buccopharyngeal and laryngopharyngeal cavities. While to analyze the nasopharynx a rigid optic was also used (30°, 2.7 mm diameter and 18 cm length).

The standard protocol started analyzing the oral and next the pharyngeal (oropharyngeal and laryngopharyngeal) cavity; to study the nasopharyngeal cavity the endoscope was introduced via blowhole, passing into the vestibule, then the olfactory and respiratory part to finish at the nasopharyngeal cavity. The specimens were placed on the table facing the endoscopist.

The MRI was performed with an instrument (GE) high field (1.5 Tesla) from the Image Diagnosis Veterinary Center of Levante (Ciudad Quesada, Alicante, Spain) using human knee coil for smaller fetuses and human head coil for the bigger ones. All images were analyzed with the program Radiant DICOM viewer.

The frozen samples were used for the sagittal and coronal sections using a band saw 0.5-0.7 cm wide. The sections resulting were preserved in formaldehyde 10% and then stored in cool chambers. Other specimens were injected balsamic solution via the auricula and the jugular and umbilical veins, either manually or with the help of a peristaltic pump.

Histology

Rectangular samples were oriented perpendicular in paraffin blocks and were processed with a microtome; The resulting paraffin blocks were stained with hematoxiline-eosine and this was pictured with an optic microscope with an adapted camera.

VII.4. RESULTS

Article 1

All the specimens were analysed using the diagnostic image techniques: Computerized tomography (CT), Magnetic resonance (MR) and anatomical sections only in one fetus.

Oral cavity

The three studied specimens clearly showed the tongue in anatomical sections, CT, and MRI, and in some specimens, it showed the lateral sublingual recesses, the dental alveolus (in the mandible but not in the maxilla) and regardless teeth:

The most caudal teeth growing covered by gums in both the mandible and maxillary bones.

The mid caudal teeth were forming in both dentary arches.

Teeth in the incisive area had not completely erupted, whereas the rest of mandible and maxillary teeth have done so.

Muscles

The masseter muscle was absent in the studied specimens.

The orbicularis oris muscles were absent as well.

The mandible depressor muscles, digastric and mylohyoid were well developed.

Rostrum (Snout)

The mesethmoidal cartilage has been seen amongst vomer, maxillary, and incisive bones, being leaned only on the groove of the vomer bone. CT showed one of two infraorbital canals inside the incisive bone of the youngest fetus.

Melon

The caudal part of the melon encloses the nasal cavity. The anatomical section showed the white nucleus of the melon surrounded by connective tissue and muscles. CT and MR also allowed us to distinguish the morphology of the melon and to compare it with the anatomical sections.

Nasal Cavity and Paranasal Sinuses

From the vestibule, the blowhole is closed by a musculomembranous fold. The vestibule of the nose is divided in two by the membranous part of the nasal septum. At the vestibule, some nasal diverticula were observed on both sides of the nasal plugs, under which there are two nasal cavities divided by the nasal septum. Thanks to the diagnostic

image techniques and anatomical sections, the maxillary sinus was observed, as well as the nasopharynx and choanae.

Orbit and eyeball

The orbit is formed by an incomplete bony rim composed of a supraorbital part formed by the frontal bone, but there is no infraorbital rim. In the beginning of the development there is a junction (synchondrosis) between the lacrimal and zygomatic bones ossifying as the gestation goes on (seen with PET/SPEC/CT). There is an oblique thin temporal process of the zygomatic bone crossing under the periorbit and holding it. The eyeball was observed with MR, but the tapetum lucidum and the lens also with CT.

All these structures were revealed with different techniques in different specimens

Central Nervous System

- The longitudinal brain fissure
- The sagittal dorsal sinus
- The lateral ventricle
- The meninx and the mesencephalic aqueduct
- The vestibulocochlear and facial nerves as well as the labyrinthine artery.
- The vermis and cerebellar hemispheres held by the cerebellar tentorium

Ear:

- The petrous and tympanic part of the temporal bone.
- The auditory ossicles of the middle ear (malleus, incus and stapes)
- The bony vestibule and the spiral canal of the cochlea.
- The rudimentary cartilaginous part of the external acoustic meatus

Larynx

- Surrounding the laryngeal cartilages, the laryngopharynx was observed, as well as the hyoid apparatus in their relationship with the ear.
- The temporomandibular joint and the mandibular canal fat, which was very close to the middle ear, contacting with the tympanic wall.
- Three bones of the hyoid apparatus (the stylohyoid, basihyoid, and thyrohyoid) were well observed, while the cartilaginous bones (ephyoid, ceratohyoid, and tympanohyoid) were not seen. The caudal tip of the thyrohyoid bone was not ossified at birth.

- Cranial Cavity

Fontanelles were clearly seen with MR and CT.

VII.5. RESULTS

Article 2

Endoscopic study of the external nose and nasal cavity

External nose

In the youngest fetus, a very small protuberance was observed between the forehead and the melon. It was seen between a semi-circular line (U-shaped) (rima naris), slightly concave right to angulus naris, closing it hermetically. We viewed two lips, the upper (caudal) close to the forehead and the lower (rostral) close to the primordial melon.

The lower lip was a little bit prominent compared to the upper, but as the fetus develops both lips are prominent. In a more developed fetus (4.5 months), the epidermis of the external nose differed from the forehead epidermis, with a different colour (light pink) and with a clear separation edge of the upper lip and the forehead skin. This lip, now prominent, was clearly divided vertically by a supranasal groove. The lower lip was undivided and elevated right to the contact with the melon, which had a similar tone to that of the nose. The rima naris was slightly convex. In the pilot whale (*Globicephala melas*) fetus (gma1), the external nose presented a whitish pigmentation extending to the melon, while the pigmentation of the rest of the head appeared dark grey. The next fetuses showed the same features, with a separation area holding the nose and melon. In the last common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus, the depigmentation of the nose and upper lip remained and missed the delimitation of the nose and melon with respect to the rest of the head. The newborn striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), showed a hyperkeratosis between the two lips and the right part of upper lip preventing the access of the endoscope. In the last specimen studied, a juvenile striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), the nose was tightly closed, and uniform pigmentation was seen. The lower lip was undivided and

prominent remaining close to the melon. Between both nasal lips, there were striations and a double internal fold hermetically sealing the lips.

Nasal Cavity: Vestibule

In order to observe the nasal vestibule, caudal retraction of the skin of the forehead region was performed, first in the common dolphin smallest fetus and then in the next ones. The membranous part of the nasal septum was seen between the two nasal plugs. The mucosa showed a similar colour of that of the epidermis, a little clearer at the plugs. The vestibular folds, along with the membranous part of the nasal septum stick to the plugs, closing the meatus tightly. The nasal diverticula of the more developed striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) fetus showed a mucosa with a whitish tone which was uniform throughout the entire vestibule. Also, the meatus was opened between the 'monkey lips' (both the nasal plugs and the vestibular folds). In the pilot whale (*Globocephala melas*) fetus, the mucosal colour of the vestibule differs from the greyish tone inside the lips. The mucosa of the nasal diverticulum remained dark and had folds. In the next common dolphin (*Delphinus delphis*) fetuses, the vestibular mucosa ranged from pink, to grey to white and had greyish folds arranged in a dorso-ventral direction. The next group of common dolphins (*Delphinus delphis*) fetuses more developed showed prominent nasal plugs, the nasal septum and well-defined folds and a greyish mucosa, different from the earlier fetal stages. The mucosa of both left and right diverticula was growing in anfractuosity and the longitudinal folds more abundant.

The newborn was diagnosed with epithelial inflammation with local hyperkeratosis probably caused by a congenital alteration. This obstructed the right nasal cavity. This specimen had a thickened membranous part of the nasal septum, so the nasal plugs are barely visible. Only the left nasal plug and the dilated mucosa of left diverticulum were clearly visible.

In the juvenile striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), the mucosa of vestibule was wrinkled with striations and was tightly adhered to the plug, septum, and vestibular folds. The mucosa of the nasal diverticula presented numerous longitudinal folds.

Nasal Cavity: Respiratory and Olfactory Part

In the nasal cavity, we could distinguish four walls: the caudal, once the endoscope passed the nasal plug; the rostral wall, ventral to the nasal plug and containing

the incisive recess (pre-maxillary sac). The lateral wall was the external wall of both cavities and finally, the median wall, built by the vomer bone, separating both choanae.

The study started in a common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus of 5.5 months of gestation in which we observed the incisive recess. The mucosa of the deepest part of the recess in the left nasal cavity contained small vesicles. Also, at the bottom of the nasal cavity we could see the choanae and the bony portion of the nasal septum. Unlike the vestibule, the mucosa of the respiratory and olfactory part showed a pinkish colour as the gestation goes on. In the common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus 8.5 months of gestation, the presence of vesicles in the mucosa and longitudinal folds was clearly seen as also were small mucosal fossae close to the choanae. In the newborn, we could only study the left respiratory part of the nasal cavity since the right one was blocked and was impossible to introduce the endoscope due to hyperkeratosis. The mucosa was greyish in colour and there was inflammation of the nasal mucosa folds.

MRI Study of the External Nose and Nasal Cavity

In the fetus of four months of gestation, the sagittal sections clearly showed the external nose. The nasal cavity vestibule section did not show the developing cavities. The nasal plug could be seen, as well as the respiratory part of the nasal cavity. The main bones which form the walls are more distinct within the mesenchyme especially the presphenoid, but the ethmoid bone was not clearly identified.

In the pilot whale (*Globicephala melas*) fetus, the perpendicular lamina of the ethmoid bone was seen clearly using MRI.

In the common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus of six months of gestation, we identified the incisive recess using MR. In the three anatomical sections we also distinguished the nasal plugs, the nasal septum (membranous and bony parts) and the mesorostral cartilage.

In an advanced stage of fetal development, between the frontal and ethmoid bones, mesenchyme was still observed (There wasn't ossification).

In the common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus, ten months old, we could see the lumen of the vestibule and of the nasal (vestibular sacs) and accessory diverticula (nasofrontal sacs). Also, the nasal plugs, the vestibular folds and their associated muscles. The respiratory part and incisive recess were surrounded rostrally by the nasal plug

muscles and caudally by the incisive and maxillary bones.

Computed Tomography and 3D Reconstruction of Bony Nasal Cavity

Starting with the less developed fetus, we could see the main bones forming the rostral part of the bony nasal cavity: the incisive, maxillary bones and vomer bones. The body of the presphenoid and the ethmoid bones were in close contact from an early developmental stage and could only be distinguished as separate using MRI. A more developed striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) fetus, showed the frontal bone growing towards the incompletely ossified ethmoid bone. The rostral wall of the nasal cavity, mainly formed by the maxillary bone, was closing towards the vomer. The ethmoid bone (ethmoidal fossa) remained unossified and the bones at the base of the skull were quite separated. At five and a half months, the fetus showed an unossified ethmoidal fossa and the frontal bone had bony projections from towards the ethmoid bone. The choanae showed areas lacking ossification. In the common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus of 9 months of gestation, dde13, the walls of the nasal cavities, close to the choanae, were closing as is the rostral wall, though there were still mesenchymal areas.

In the common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus, 10 months of gestation, the rostral wall of the nasal cavity was found totally closed by the maxillary bone, forming the bony walls in both cavities at both sides of the ethmoid bone. The lamina cribosa and the vomer wings were incomplete.

The newborn striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), shows the caudal wall of the nasal cavity almost closed, with bony projections from the frontal and maxillary bones towards the ethmoid bone. The lamina cribosa of the ethmoid bone closed the wall of right and left nasal cavities.

In the adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), three sections of the nasal cavity were performed observing the bony nasal cavity completely formed.

Computed Tomography and 3D Reconstruction of Nasal Cavity Spaces

In the second less developed common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus, within the vestibule we could already distinguish the bilateral nasal diverticula. The accessory diverticulum was not clearly seen. We could observe the endocast of respiratory and olfactory part of the nasal cavity. A more developed striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) fetus showed the incisive recesses extending to the snout base overlapping

the incisive bone. In a common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus of 5.5 months gestation time, the left lateral view allowed us to distinguish the accessory nasal diverticulum, which was very small and oriented rostrally. In the last studied fetus, dde14, we observed the accessory nasal diverticulum ventral to the left nasal diverticulum. In the adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) specimen, we saw well-dilated left and right diverticula, the accessory one, the incisive recess and parts of the left respiratory and olfactory parts of the nasal cavity.

Study of the Nasal Cavity Using Sectional Anatomy and Dissection Techniques

Sectional Anatomy

At the level of the vestibule, we could see many vestibular folds, together with the nasal plugs forming the "monkey lips" involved in sound production. We also observed muscles of the external nose, which enable the opening of its caudal lip. We also could see the accessory diverticulum and the vestibule.

The coronal sections at the vestibule level showed the left and right diverticulum and nasal plugs close to the vestibular fold.

Dissections

Dolphin Specimens

After removing the external nose in a newborn, we observed dorsally the right nasal diverticulum and ventrally the accessory nasal diverticulum caudal to the right nasal plug. The right nasal plug was clogged and the left one was normal. We also observed two functional positions of the left nasal plug, one opened and two closed, and the nasal cavities divided by the nasal septum. In a female preserved adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), the right nasal diverticulum was dilated to better understand its size and form. In subsequent images, the rostral wall of diverticulum had to be removed to show the dark mucosa and ventrally the closed nasal plug and then opened showing a portion of the less pigmented mucosa. In a female fresh adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), we could identify the right and the accessory diverticula. The right nasal plug is tightly closed, and the mucosa of both diverticula is dark in colour.

Horse specimens

The fetal vestibule was observed in its anatomical position showing the alar fold

and nostril (false nostril is the portion of the nostril continuous with the nasal diverticulum) which is the orifice of nasal vestibule. Dissections showed the differences between the mucosa of nasal diverticulum, vestibule, alar fold and respiratory part of the nasal cavity.

Histological Study of the Nasal Cavity

Dolphin

The vestibular mucosa, specifically its diverticula, had a stratified squamous epithelium, both pigmented and keratinized. The papillary layer was wide. The connective tissue base appeared normal and contains small vessels. The vestibular folds showed a connective tissue base with cartilage and striated muscle. The nasal plug presented a stratified epithelium, narrow and pigmented with a papillary layer wide and flattened. It also had stratified musculature in discontinued fascicles. Its connective tissue base was strong with muscular fascicles. The mucosa in the respiratory part had a pseudo-stratified arrangement but cilia were not observed. A dense connective tissue base with a few muscular fibers and blood vessels was seen (white areas enlarged and empty). The mucosa of the olfactory part was founded by a pseudostratified epithelium but cilia were not seen and it was more rounded and wider than the respiratory part. The papillary layer was narrow and vascularized with a connective tissue base. A stratified squamous epithelium lined the incisive recess. The papillary layer was wide with little vascularization. The connective tissue base contained some nerves was seen.

Horse

The vestibular mucosa of the nasal cavity, specifically its diverticula, presented a stratified squamous epithelium, both pigmented and keratinized with hair and with associated sebaceous glands. The papillary layer was not well defined. The connective tissue base held some adipose tissue. The alar fold was formed by a stratified squamous epithelium which was not keratinized. The connective tissue base was large and dense. There were groups of glands between the sebaceous tissues. The respiratory part of the nasal cavity had a pseudostratified epithelium, forming a cylindrical mucosa with cilia and a cartilaginous base. The mucosa of the olfactory part was formed by a pseudostratified epithelium, but olfactory cilia were not clearly seen.

VII.6. RESULTS

Article 3

Oral Cavity

The oral cavity proper extended from the rostral part of the palatoglossal arch or folds to the lingual aspect of 186 the incisive teeth. The dorsal limit was delimited by the oral cavity's roof and the ventral limit is defined by the 187 tongue and the proper oral cavity and the prefenular space.

The bony anatomical base of the oral cavity's roof is composed of the palatine processes of the maxillary and incisive bones; the left and right mandibles were the ventral limit.

- Endoscopic study

In the least developed fetus, a common dolphin (*Delphinus delphis*), the lips are 210 proportionally large and immobile. The oral rim, like the blowhole, is tightly closed. A frenulum of the superior and inferior lips was absent. The buccal vestibule happened to be not well defined at this stage of development. The gums of the mandibles appeared wider than those of the maxilla. The hard palate was forming. An incisive papilla was not observed. Tongue was short, wide and without papillae.

In the next common dolphin (*Delphinus delphis*) fetus, a labial vestibule between the gums and lips was observed (not a buccal vestibule). The hard palate showed a middle palatine raphe in all species studied and only in common dolphin both lateral palatine grooves were parallel to the middle hard palate. Marginal papillae extended from the edges to the middle of the tongue. The dorsum of the tongue was smooth with an indistinguishable central groove. In the oral cavity proper, there were two lateral sublingual recesses with a lateral sublingual fold which thickened rostrally.

In the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), the hard palate showed a palatine raphe and the incisive papilla was a little larger than common dolphin (*Delphinus delphis*).

In the pilot whale (*Globicephala melas*), a little older than the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), the hard palate showed a deep palatine raphe and the incisive papilla was larger than in other fetuses. The marginal papillae extend from the tip of the tongue almost to the root. The lingual frenulum was thinner than in other small fetuses.

The gums were covering the teeth in both superior and inferior arcades. Teeth were well differentiated in this pilot whale (*Globicephala melas*) at this stage (5 months). Also, the sublingual lateral folds were thin though the rostral tips started to thicken.

In a more developed fetus (dde8) common dolphin (*Delphinus delphis*) it was possible to observe marginal papillae extending from the tip to the middle of the tongue, and the lateral sublingual folds were thickening all along.

In a common dolphin (*Delphinus delphis*) close to birth, the teeth of the superior arcade were well developed unlike those of the inferior one. Also, the lateral sublingual folds were well dilated

In the youngest newborn (Striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*) all teeth were covered by gums. Teeth eruption was seen in two older newborn specimens while caudal teeth started to erupt; nevertheless rostral teeth were covered by gums and the incisive teeth were not well developed. Also, the marginal papillae were well developed and progressively decrease towards the root.

- MRI study

The T2 MRI image of the oral cavity shows in a common dolphin (*Delphinus delphis*) that unerupted teeth could be seen under the gums

- Histological study

Vestigial incisive papillae appear with a keratinized pseudostratified epithelium. Conducts arriving at papilla were not seen nor was the vomeronasal organ (common dolphin *Delphinus delphis* close to birth). Abundant lymphatic vessels were observed in the dermis. Developing teeth were observed covered by gum tissue. The histological structure of teeth shows inner dentin, covered by enamel and all (crown, neck, and root) by cementum. The sublingual lateral folds had a mucosa with abundant vessels and mucous glands while neither the sublingual caruncula nor the orobasal organ were observed.

The sublingual lateral fold showed a pigmented epithelium at the level of its basal stratum. The tongue presented a striated muscle base and near the epithelium abundant mucous glands with secretor ducts.

In an adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) the incisive papilla showed a well developed papillary stratum. The dermis contained abundant fat tissue and rests of

epithelial ducts in regression. The lateral sublingual recess was a keratinized epithelium with mucous glands and a well-developed papillary stratum.

The pharyngeal cavity

The pharynx is a muscle-membranous cavity divided in three parts: the oropharynx, the nasopharynx and the laryngopharynx; this last one connects the oral cavity with the stomach and it allows the entrance of the aditus laryngis to the nasopharynx cavity crossing the intrapharyngeal orifice only in cetaceans.

The bony roof of oropharynx is composed of the palatine bone and the pterygoid bone laminae (lateral and medial). Also, the nasopharynx is delimited dorsally by the vomer wings and the medial lamina of the pterygoid bone. Ventrally, only the hyoid apparatus attaches the root of the tongue and larynx to the base of the cranium.

Study of oropharynx, nasopharynx and laryngopharynx.

The oropharynx cavity begins with an orifice, the isthmus of the fauces, continues with the fauces and finishes at the lingual aspect of the epiglottic cartilage.

- Endoscopic study

The endoscopic study began at the oropharynx, showed a tightly closed isthmus of the fauces in a young fetus, a common dolphin (*Delphinus delphis*). The endoscope could not cross this gate.

The endoscope was passed into the fauces in an older fetus, a common dolphin (*Delphinus delphis*) showing no lymphoreticular tissue in the floor (tongue), walls (palatoglossus archs or folds) or roof (soft palate). The soft palate is inserted into the ventral crest formed between the lateral and medial lamina of the pterygoid bones. The palatoglossal archs or folds connect to the soft palate through the tongue root. At the end of fauces a soft vallecula continues dorsally with the lingual aspect of the mucosa of epiglottic cartilage. At this level we observed dorsally the intrapharyngeal orifice to let pass the larynx into the nasopharynx. Also, laryngopharynx begins with a piriform recess on either side of the larynx cartilages. The left piriform recess is wider than right. Caudal to the recesses is the dilated oesophageal vestibule with its mucosa arranged in longitudinal folds which changes to small quadrangular folds in the pharyngoesophageal limit.

Both the striped dolphin fetus (*Stenella coeruleoalba*) and the pilot whale fetus

(*Globicephala melas*) had a well-developed mucosa at the isthmus and only a narrow passage to the fauces which had a pale lingual mucosa and grey/brown colour in its walls and roof.

A well-defined fauces were observed in an older common dolphin fetus (*Delphinus delphis*) in addition to a broad left piriform recess with longitudinal folds finishing at the oesophageal vestibule.

In a well-developed fetus common dolphin (*Delphinus delphis*) the endoscope could pass into the choanae to see the nasopharynx and the pharyngeal orifice of the auditory tube. The oropharynx mucosa was thickening, the longitudinal folds in piriform recesses of laryngopharynx were thin, with a clear difference between the mucosa of the oesophageal vestibule and oesophagus.

The mucosa of fauces continues to thicken as development progresses in a common dolphin fetus (*Delphinus delphis*) and has a bright aspect. Also, in the nasopharynx, the mucosa showed longitudinal folds and small openings surrounding the pharyngeal orifice of the auditory tube.

In a juvenile dolphin we could observe the pinkish mucosa of the nasopharynx with longitudinal folds, but the small holes had less border definition.

- Histological study

The histological results showed that the epidermis of the oropharynx at the soft palate level has a tightly papillary stratum with deep mucous glands and abundant mucous glands in its submucosa. Additionally, at the level of the isthmus of the fauces, histology presented a connective tissue stratum deep to the epidermis, containing many deep mucous glands. The nasopharynx had a respiratory mucosa with an anfractuous papillary stratum below, which was a wide connective stratum and finally a deep serous gland close to striated muscle. Additionally, we have located Vater-Paccini corpuscles near the auditory duct between striated muscles. No lymphoreticular tissue was observed.

- MRI study

The MRI sagittal images showed a pharyngeal cavity in a pilot whale fetus (*Globicephala melas*) and we could appreciate the oropharynx (fauces), the nasopharynx and the oesophageal vestibule. Also, the piriform recess alongside the larynx.

Special study of nasopharynx. Pharyngeal diverticulum of the auditory tube (PDAT).

a) MRI study

In MRI we can appreciate in early fetal stages a bilateral structure within the laryngopharyngeal cavity, namely two pharyngeal diverticulum of the auditory tube (PDAT). These are connected through the musculotubaric channel with the middle ear (Temporal bone: petrous and tympanic part). In a young common dolphin fetus (*Delphinus delphis*), in sagittal and coronal sections was seen caudal and rostrally, respectively.

In older common dolphin fetuses (*Delphinus delphis*) this double space at both sides of the laryngopharynx was more evident but now we could distinguish the vascular area and the aerial area.

In more advanced fetal development it was possible to observe air and vascular areas and even the auditory tube.

The pharyngeal diverticula of the auditory tubes (PDAT) were seen clearly in sagittal and coronal sections in a Risso'dolphin fetus (grgr1) (*Grampus griseus*).

b) Histological study

The histological analysis of the PDAT showed well defined two compartments. A pharyngeal vascular plexus was observed with abundant and dilated vascular endothelium. A detailed image reveals the luminal vessels filled with blood. The wall of special tissue had another surface lined with respiratory epithelium and it was in contact with air.

c) Anatomical study

c1) Osteology

The PDAT was a well delimited area even in the early stages of fetal development. This area extended medially to the bonny choanae and extends dorsally to the maxillopalatine fossa, medially to the pterygopalatine recess (pterygoid sinus) and rostrally to the petrous and tympanic parts of the temporal bone (cochlea).

c2) Sectional anatomy

The three coronal sections in a newborn striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) prolonged dorsally from floor to roof. In these images it was possible to observe the proximity to the mandible channel tissue and the pharyngeal orifices of the auditory tubes crossing the pharyngeal muscles; It was easy to differentiate medially the air area (near the auditory tube and nasopharynx and laterally to the cribriform area).

The two sagittal sections in a juvenile striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) were

made parasagittally at the level of the ear. It showed that this area (PDAT) run rostrally to the inner and middle ear crossing below the basal bones of the cranium to arrive to the pterygopalatine recess (pterygoid sinus) and to finish dorsally at the maxillopalatine fossa. In the adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) the pharyngeal orifice of the auditory tube is canalized by a trocar and the pharyngeal diverticula of the auditory tube area was placed ventral to this. The removing of the pharyngeal muscles revealed the trajectory of the auditory tube towards the pharyngeal diverticulum.

d) Dissection

A deep dissection in a newborn striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) showed the extent of the pharyngeal diverticulum of the auditory tube.

VII.7. DISCUSSION

Article 1

Oral cavity

The teeth of the rostral alveoli (equivalent to incisive teeth) erupt later than the more caudal alveoli (equivalent to premolars and molars); this would have a functional application in the lactation (perinatal period), since the rostral teeth erupting afterwards would help to suction milk and at the same time to hold the mother's nipple without harming it.

We have not found the masseter muscle in fetal, newborn and adult striped dolphin specimens, the muscle is atrophied. Odontocetes have lost this feature throughout evolution because most of the cetaceans, with the remarkable exception of orcas (Werth, 2007) that swallow their prey intact without chewing.

Salivary glands and lymphatic nodules were not observed in either the fetal or the newborn dolphin heads.

Rostrum (Snout)

In the dolphin's snout, there is a link between the vomer, maxilla, and incisive bones. In the domestic mammal nose, the nasal septum cartilage extends rostrally to the nasal openings, but in cetaceans the nasal cavity and snout are at different levels due to telescoping. The snout tip has three functions in odontocetes: tactile (protopatic), offensive (together with tip of mandible), and, as a consequence of the mesethmoid cartilage joining

these three bones, a shock absorber (Hosokawa and Kamiya, 1965).

Melon

The rostral muscles are inserted in the fibrous external area of the melon and were located ventrolateral to it and belong to the residual group of the facial neuromuscular system (Nickel et al., 1986; Sandoval, 2000; Harper et al., 2008).

Nasal Cavity and Paranasal Sinuses

Surrounding the nostrils are striated muscle fibers opening and closing the nasal openings, acting as sphincter muscles. On dissecting the nasal vestibule in a fetal specimen, we observed that both nostrils have a common area under a musculomembranous sphincter, but ventrocaudally the membranous part of the nasal septum separates the left and right nasal vestibules. Rauschmann et al. (2006) stated that the superficial blowhole emerges into an unpaired vestibulum.

Ventral to the nostrils, nasal vestibules with several air sacs (diverticula) (Reidenberg and Laitman, 2008) were observed in the studied specimens.

In dolphins, the nasal plug, alar fold, and the nasal vestibule have been modified for sound generation and as a water reservoir. (Hosokawa y Kamiya, 1965) described the presence of pterygoid and maxillary sinuses with a heterogeneous substance in sections III and IV as we found in the oldest fetus. These sinuses may be non-functional. The paranasal sinuses heat the air and decrease the skull weight in domestic mammals. In cetaceans, moving in a less gravid environment could lead to regression of these cavities.

On the other hand, (Corpa et al., 2004) described the ethmoidal sinus and (Racicot and Berta, 2013) the pterygoid sinuses, which we have not observed in our specimens studied. We have located in striped dolphin some small orifices in the frontal wall of the nasal skull that clearly connect the nasal cavity with the maxillary sinus; however, we do not know if nasal mucosa closes these orifices completely or are vascular nutrition orifices.

We confirm the bilateral asymmetry, supporting the theory that this is directly proportional to the prey size (MacLeod et al., 2007).

We did not observe the vomeronasal organ in our anatomical sections or MRI sequences under the nasal mucosa and vomer bone, so we confirm the absence of smell in these species though we observed in a striped dolphin newborn skull, an ethmoid bone

like the cribriform plate in domestic mammals, so we believe it is possible that olfactory mucosa may be present. (Rommel et al., 2009) also talked about a certain olfactory capacity in cetaceans.

Orbit and Eyeball

In our study using PET/SPECT/CT, it is possible to observe in sco1, ossification centers which are not fused at this early stage. According to next several authors (O'Rahilly and Müller, 1987; Mead and Fordyce, 2009; Cozzi et al., 2017), in odontocetes (except beaked whales), the lacrimal and zygomatic (jugal) bones are fused forming the lacrimozygomatic (lacrimojugal) bone, a fact that we have confirmed in this study, indicating that it is a synchondrosis that will become a synostosis. As in domestic mammals, the lacrimal bone is placed lateral with respect to the zygomatic bone. In odontocetes, there is no bony infraorbital border and the only structure running under the ventral eyelid is the facial nerve. In this study, the temporal process of the zygomatic bone holding the periorbit at its middle point was observed in dissections and anatomical sections.

Central Nervous System

MR sequences of the brain of sco1 begin to differentiate the diencephalon and telencephalon, though the trunk of the encephalon and cerebellum are less defined. In the most developed fetus, the different parts of the trunk of the encephalon are better defined, except for the cerebellum. In addition, we have observed the cerebellum and brain hemisphere as described in perinatal dolphins. The lateral ventricles and the mesencephalic aqueduct were appreciated in the 3 specimens studied. In either of these have we found the fourth ventricle using MR sequences.

We have observed that the tentorium cerebelli starts ossification during the fetal stage until the process is complete in adult odontocetes, unlike domestic mammals, where it remains membranous, except in cats (Nickel et al., 1986; Sandoval, 2000). We suggest the functional explanation for this relates to both species needing a well-held cerebellum due to their activity during swimming (locomotion), jumping, climbing, etc.

Ear

At the tympanic cavity, we have observed a semi-open musculotubaric canal in the

second fetus, whose opening is the tympanic orifice located in the carotid or rostral wall of middle ear. This continues with the auditory tube to its opening at the pharyngeal orifice in the nasopharynx.

The auditory tube in the newborn could be observed in dissections as a mucosal-bony dilated space close to the perpendicular lamina of the palatine bone, extending to the pharyngeal orifice of auditory tube (eustachian notch) (Mead y Fordyce, 2009) where it opens into the nasopharynx by the pharyngeal orifice of the auditory tube. We agree with (Houser et al., 2004) about the presence of a maxillary sinus and about the existence of a connection with the middle ear (auditory tube that we observed dilated).

In our fetal study, we have just observed air cavities close to the musculotubaric canal of the middle ear, which could be a "pseudo-diverticulum" similar to the horse "guttural pouch" or a pharyngeal diverticulum of the auditory tube (Sandoval, 2000; Cozzi et al., 2019). That would form a rudimentary osteomucomembranous space or guttural pouch, also placed in the cetaceans under the base of the cranium, connecting the tympanic cavity with the pharyngeal orifice of the auditory tube inside the nasopharynx.

Larynx

In fetal specimens, we have observed that the entrance to the larynx (larynx peak) is very circumscribed and is formed by the rostral tips of the epiglottic and arytenoid cartilages. Both cartilages are very enlarged and oriented dorsorostrally toward the choanae. The arytenoid cartilages should not be described as cuneiform cartilages (Nickel et al., 1986; Schaller, 1992; Sandoval, 2000) and perhaps as corniculate tubercles (Sandoval, 2000).

The corniculate tubercles are indeed mucosal eminences formed by the corniculate process of the arytenoid cartilages, a feature not observed in the specimens studied.

Cranial Cavity

Three fontanelles were observed in our odontocetes fetus studied: occipital, frontal, and mastoid (Mead and Fordyce, 2009) (the last one less clear).

VII.8. DISCUSSION

Article 2

Endoscopic study of the external nose and nasal cavity

External nose

The external nose of adult odontocetes and mysticetes is sometimes confusing, often due to differing terminology.

The endoscopy technique to analyze the nasal cavity has allowed us to observe the external nose and nasal cavity morphology caudal to the choanae. We have observed the highly characteristic morphology of the cetacean nose with the endoscopy images. The presence of nasal lips (rostral and caudal) and its anatomical position closed from the beginning of development to avoid the entrance of water and salt into the nasal cavity is one of the first image proofs of the development of the two prominences in the caudal lip and their division by a median groove from the nasal septum to the caudal lip. Together with the function of the melon in the projection of sounds produced by "phonic lips" (Pouchet and Beauregard, 1885;; Cranford et al., 2011; Berta et al., 2014), this supports our idea that the melon is forming part of the external nose both anatomically and functionally, and not merely as a part of the nasal complex. These changes in morphology will be helpful in determining the stages of fetal development.

The MRI and dissection images allowed us to observe that both the caudal and the rostral lips present retractor muscles which act to open the nose for breathing when the animal rises above the water.

We also discovered that closing of the lips becomes more airtight, rendering them more waterproof.

Nasal Cavities

We suggest that the cetacean nasal cavity should be more properly called the maxillary cavity.

- Vestibule

In our opinion it is not fully explained in previous publications. The presence of two diverticula of the nasal vestibule is clearly shown by endoscopy, 3D reconstructions, sections, and dissection studies.

The stratified squamous epithelium is similar to that of the equine nose and corroborates our idea about its function, which is protection from external agents and water (Schenkkan, 1973; García de los Ríos et al., 2019).

The vestibular fold shows a very different mucosa from that of the respiratory region, probably related to its proposed function in sound production. The nasal endocast and the volumetric reconstructions enabled us to study its morphology and to locate another accessory nasal diverticulum that we confirmed by dissections. Our developmental study shows that the vestibule in common and striped dolphins *Stenella coeruleoalba* and pilot whale *Globicephala melas* is less complex.

As for the "monkey or phonic lips" according to our study, the dorsal parts of the sound production mechanism were the vestibular folds placed under the upper lip and the ventral parts were the nasal plugs divided by the membranous part of the nasal septum. The "monkey or phonic lips" are solely in charge of producing sound projected towards the melon. Diverticula avoid the entrance of possible water filtrations through the blowhole that could have entered during sound production, diving or under a stressful situation, since they are very far from the phonic lips. It is interesting to observe that vestibular folds lack an epithelium and present a connective tissue and muscular base explaining its function as sound generator.

- Respiratory and Olfactory Parts of the Nasal Cavity

This region delivering air towards the lungs is characterized by the absence of nasal conchae or cornettes and paranasal sinuses except for the maxillary sinus (García de los Ríos et al., 2019) which is absent in the adult. It seems that these structures lack the olfactory function in odontocetes, as our histological analysis did not find olfactory epithelium.

- Bony Nasal Cavity

The maxillary bones forming the rostral wall are first to form followed by the frontal bones closing slowly towards the cranium base, but they only slowly ossify and connect with the lamina cribosa of the ethmoid bone.

The final bone to ossify is the ethmoid bone, which indicates that it is to allow the passage of the olfactory nerves and form the lamina cribosa, even though the olfactory bulb is vestigial in cetaceans and persists as a remnant of phylogeny (Cave, 1988b; Klima, 1995). The vomer bone is growing rostrally slowly and we can see the groove on which the mesorostral cartilage will be placed. The bones closing the ventral floor of nasal cavity are the pterygoid and the palatine (Klima, 1999). The ethmoid bones take longer to ossify

and close the caudal wall of the nasal cavity which was visible in the volumetric reconstructions. The cast of the respiratory and olfactory parts showed two cavities bending caudally towards the nasopharynx surrounded by the above-mentioned bones.

- Nasal Mucosa

The endoscopic study of the nasal cavity shows at the early developmental stage a smooth mucosa which forms longitudinal folds as development progresses.

The incisive recess serves to store, along with the vestibular sac (Lawrence y Schevill, 1956), water escaping from the nasal vestibule which is expelled when the animal emerges to breathe (García de los Ríos et al., 2019). Histological analysis of the nasal vestibule produced similar findings to the nasal diverticulum of the horse (Browsers y Kaminga, 1990). The spherical nuclei of the sensorial cells were not observed in the olfactory part confirming the absence of olfactory function

Pathological Findings

The endoscopic study detected an obstruction in the right nasal cavity vestibule in the newborn from Ceuta stranded with its mother and dying afterwards. Post-mortem pathologic analysis confirmed this diagnosis. Using endoscopy, parasites were detected, belonging mainly to two families (Pseudaliidae and Prassicaudidae) and four genera (Halocercus, Pharurus, Pseudalius and Stenurus) (Dailey, 2001; Raga et al., 2009). This often-undiagnosed infestation, along with the obstructions could lead to stranding of neonatal cetaceans. When necropsies are performed, we think that endoscopy of the nasal cavity should be included in necropsy protocols, despite the difficulty of the technique.

VII.9. DISCUSSION

Article 3

Oral cavity

Vestibule

In cetaceans, lacking cheeks and therefore masseter muscles during development, only the labial one is present.

Also, in cetaceans, the lips are tightly close, so the mouth closing, as happens with the blowhole; therefore, the labial vestibule is unique in cetaceans because it lacks buccal

vestibule and it is different from terrestrial mammals

- Oral cavity proper

- Roof

The rostral part of hard palate has only a vestigial papilla. Since the ontogeny reflects the phylogeny, the ducts are more formed in early stages of development and degenerate as gestation progresses. The innervation observed in this incisive papilla is probably related to the tactile sensitivity to test the mucosa of some prey. This sensation is collected by the major palatine nerve 628 from the maxillary branch of trigeminal nerve.

-Tongue

The lingual papillae in the pilot whale (*Globicephala melas*), a teuthophagous suction feeder (Werth, 2007), may enable its specific feeding strategy; On the other hand, common and striped dolphin lingual papillae don't extend caudally and these disappear as the animal matures (as in terrestrial mammals).

The regressing papillae may be due to the adult type of feeding and with the prolonged lactation period (19-20 months in the striped (*Stenella coeruleoalba*) and common (*Delphinus delphis*) dolphins and even longer in the pilot whale (*Globicephala melas*) (Cozzi et al., 2017).

- Histological considerations

We confirm the presence of mucous glands in an adult striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) as well as in the oesophagus, confirmed by the endoscopic images. We also observed mucous glands in the common dolphin fetus (*Delphinus delphis*). The large numbers of mucous glands have a double function: mechanical protection and lubrication as it happens in the oropharynx. Also, the absence of salivary glands explains the abundant mucous glands in substitution.

As for the immune system, the large number of lymphatic vessels explains the absence of nodular formations (tonsils and nodules) which could jeopardize deglutition in cetaceans.

The small grooves may in fact be the location of the hitherto unveiled taste receptors (Sokolov y Volkova, 1973).

We did not locate receptors for taste or olfaction in the oral or nasal cavity (García de los Ríos et al., 2021).

-Floor

Sublingual recess and labial vestibule are quite shallow, perhaps due to the absence of mastication that nullifies the need for a functional space outside the vestibule surface of the teeth (Cozzi et al., 2017).

We see this narrowness of the labial vestibules and sublingual recess during fetal development. We did not observe the presence of any duct transporting saliva or sublingual papillae as in domestic mammal species.

The monostomatic salivary glands are absent in cetaceans (García de los Ríos et al., 2021).

We did not find stomas opened along the lateral sublingual folds (polystomatic gland) and major sublingual and mandibular ducts, this last atrophied in cetaceans.

Even though the mouth is a tight opening, when the dolphin feeds under the water, the entrance of some salt water is unavoidable, but this will be ejected later with the help of the tongue. In a humid environment the saliva would be unnecessary.

-Teeth

Teeth formation occurs below the gums (García de los Ríos et al., 2021). The final eruption takes place during the perinatal period after lactation (this, along with the few development of the incisive teeth, protects the mother's nipple) probably by the scratching of the gums against the rough surfaces of food.

For the first time, we discovered that the developing teeth are covered by cementum under the gums. We can conclude that odontocete teeth are phylogenetically closer to the hypsodont dentition of ruminants and equids, in which teeth are composed from the crown to root as follows: a core dentine covered internally externally by enamel which is covered later by cementum

- Pharyngeal cavity

During fetal development, we observed that soft palate of odontocetes stays attached caudally along the crests of the pterygoid bone

The isthmus of the fauces is tightly closed as happens with the blowhole (García de los Ríos et al., 2021). Once born, the oropharynx remains closed and does not open until food is swallowed.

1. Histological considerations

- Nasopharynx

The pharyngeal orifice of the auditory tube is an open membranous duct close to the pharyngeal muscles connecting with the musculotubaric channel and ending in the tympanic orifice of the auditory tube at the rostral wall of tympanic cavity.

The pterygopalatine recess (pterygoid sinus) is not isolated but connected with the pharyngeal diverticulum of the auditory tube at the level of the auditory tube notch (Meady Fordyce, 2009). We do not consider the pterygopalatine recess as an isolated space of the auditory tube diverticulum but being part of it.

The fact that the auditory tube is not a closed duct but dilating and folding according to pressure, has its application in decompression. This theory can be reinforced by the fact that the Vater-Paccini corpuscles are pressure receptors observed in the nasopharyngeal mucosa by the pharyngeal orifice of the auditory tube.

This would also prevent collapse of the tracheal and respiratory walls while simultaneously ensuring that the air at great depths is distributed to essential areas.

The blood present can have a double function of refrigeration and reservoir of extra oxygen, taking place an exchange of O₂ allowing the exchange with the blood vessels in part of the epithelium and blood inside the sinuses.

2. Compared anatomy

In odontocetes, the diverticulum extends only to the pterygopalatine recess (pterygoid sinus) and medially to the pterygoid bone. Both diverticula are divided by bone so the entrance to the larynx is not interrupted at this level.

VII.10.CONCLUSIONS

- Nor lymphatic nodules neither salivary glands were found during the stages of the dolphin head development. We've found mucosa glands at the oral and pharyngeal cavity, with a double function, mechanical protection and lubrication. On the other hand, at the nasopharyngeal cavity we have found pressure and serosa corpuscles and glands to wet the area.
- The fusion between the zygomatic and lacrimal bones was found in the least developed fetus. The temporal process of the zygomatic arch has been described

holding the periorbita of the fetus. The cribosa lamina in the ethmoid bone is the last bone ossifying in the nasal cavity of a newborn. The anatomical structures were correctly identified, like in the case of the pre4sfenoid and ethmoid bones.

- The endoscopic study of the fetus anatomy allowed us to observe simultaneously development of the melon and the external nose. The Form and function of the external nosed is made of two sealed lips very simple during development and very sophisticated in the adulthood. The vestibule showed the "monkey lips", two diverticula and two incisive recesses and longitudinal folds in the olfactory and respiratory portions of the nasal cavity. The endoscopies of the buccopharyngeal cavity would be useful to highlight alterations in the anatomical structures at these levels that could be responsible of the animal death.
- The three-dimensional reconstructions of the aerial spaces and the nasal cavity made possible the spatial representation during the nasal cavity development and confirmed our endoscopic observations. Also, the anatomical sections and dissections helped to our identification of structures already viewed in the endoscopic, MR and CT studies.
- The histological analysis confirmed the similarity between the nasal mucosa of the horse and dolphin. The histopathological findings showed a hyperkeratosis of the vestibule and this should be taken into account during necropsies of stranded dolphins. The histological analysis also revealed that no olfactory cells were present in the nasal cavity.
- The retraction of the nasal bones, the vertical position of the nasal cavities and the special bony walls take us to recommend the nasal cavity to change his name to maxillary cavity since these bones close these cavities in dolphins as the nasal bones do it in domestic mammals.
- The nasal vestibule holds different cavities simitars to the nose diverticulum described in horses. The diverticula in cetaceans serve as water reservoirs and protect against external agents. The vestibular folds are similar to those alar folds described also in the horse.
- Teeth in development show three layers bellow the gum, develop during fetal period and erupt through the gum after lactation. The most rostral teeth are absent

during perinatal period, helping during lactation to protect the mammalian papillae. Also, we noticed the absence or atrophy of the masseter muscle since dolphins do not chew but swallow their preys.

- The tongue, functionally and morphologically, presents marginal papillae disappearing gradually after lactation, staying longer in some species such as the pilot whale.
- In the laryngopharyngeal cavity, the left piriform recess is bigger than the right one, probably to allow in first the flowing of big preys.
- In the nasopharyngeal cavity, one of the finding of this study was to put under the spotlight for the first time, the diverticulum of the auditive tube from early stages of the fetal development using MR and dissections of dolphin heads. This space "pharyngeal diverticulum of the auditive tube" extends rostr dorsally from the ear to the nasopharyngeal cavity. This pharyngeal diverticulum is similar to the horse guttural poach and connects the tympanic cavity with the nasopharyngeal cavity and contain a vascular plexus and a respiratory mucosa in contact with an airspace.

BIBLIOGRAFÍA

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Farre, J.M.; Gonzalo-Orden, M.; Barreiro-Vázquez, J.D.; Barreiro-Lois, A.; André Morell, M.; Llarena-Reino, M.; Monreal-Pawlowsky, T.; Degollada, E. Cross-sectional anatomy, computed tomography and magnetic resonance imaging of the head of common dolphin (*Delphinus delphis*) and striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). J. Vet. Med. Anat. Histol. Embryol. 2014, 43, 1–9.
- Armfield, B.A.; Zheng, Z.; Bajpai, S.; Vinyard, C.J.; Thewissen, J. Development and evolution of the unique cetacean dentition. PeerJ 2013, 1, e24.
- Behrmann, G. Funktion und Evolution der Delphinnase. Nat. Mus. 1983, 113, 71–78.
- Berta, A.; Sumich, J.L.; Kovacs, K.M. Cetacean evolution and systematics. In Marine Mammal Evolutionary Biology, 2nd ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2005; pp. 165–209.
- Berta, A.; Ekdale, E.; Cranford, T.W. Review of the cetacean nose: Form, function, and evolution. Anat. Rec. 2014, 297, 2205–2215.
- Berta, A.; Ekdale, E.G.; Zellmer, N.T.; Deméré, T.A.; Kienle, S.S.; Smallcomb, M. Eye, Nose, Hair, and Throat: External Anatomy of the Head of a Neonate Gray Whale (Cetacea, Mysticeti, Eschrichtiidae). Anat. Rec. 2015, 298, 648–659.
- Bouetel, V. Phylogenetic implications of skull structure and feeding behaviour in Balaenopterids (Cetacea, Mysticeti). J. Mammal. 2005, 86, 139–146.
- Browsers, M.E.L.; Kaminga, C. The use of computed tomography in cetacean research air sac determination of *Lagenorhynchus albirostris*. Part 1. Aquat. Mamm. 1990, 16, 145–155.

- Buono, M.R.; Fernández, M.S.; Fordyce, R.E.; Reidenberg, J.S. Anatomy of nasal complex in the southern right whale, *Eubalaena australis* (Cetacea, Mysticeti). *J. Anat.* 2015, 226, 81–92.
- Carte A, Macalister A. (1868). On the anatomy of *Balaenoptera rostrata*. *Phil Trans* 158: 201–261.
- Cave, A.J.E. The os maxilloturbinare in the Cetacea. *Investig. Cetacea* 1988a, 21, 41–50.
- Cave, A.J.E. Note on olfactory activity in mysticetes. *J. Zool.* 1988b, 214, 307–311.
- Chaplin, M.; Kamolnick, T.; Van Bonn, W.; Carder, D.; Ridgway, S.; Cranford, T. Conditioning *Tursiops truncatus* for nasal passage endoscopy. In Proceedings of the 27th International Association for Aquatic Animal Medicine Conference (IAAAM), Chattanooga, TN, USA, 11–15 May 1996; pp. 11–15.
- Collet R. On the external characters of Rudolphi's rorqual (*Balaenoptera borealis*). *Proc. Zool. Soc. London*, 1886.
- Corpa, J.M.; Peris, B.; Palacio, J.; Liste, F.; Ribes, V. Hydrocephalus in a newborn bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*). *Vet. Rec.* 2004, 155, 208–210.
- Costidis, A.M.; Rommel, S.A. The extracranial arterial system in the heads of beaked whales, with implications on diving physiology and pathogenesis. *J. Morphol.* 2016, 277, 5–33.
- Cozzi, B.; Huggenberger, S.; Oelschläger, H. Anatomy of Dolphins. Insights into Body Structure and Function; Academic Press: London, UK, 2017; pp. 1–438.
- Cranford, T.W. Visualizing dolphin sonar signal generation using high speed video endoscopy. *J. Acoust. Soc. Am.* 1997, 102, 3123.
- Cranford, T.W.; Amundin, M.; Kenneth, S.N. Functional morphology and homology in the Odontocete nasal complex: Implications for sound generation. *J. Morph.* 1996, 228, 223–285.
- Cranford, T.W.; Elsberry, W.R.; Bonn, W.G.W.; Jeffress, J.A.; Chaplin, M.S.; Blackwood, D.J.; Carder, D.A.; Kamolnick, T.; Todd, A.; Ridgway, S.H. Observation and analysis of sonar signal generation in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): Evidence for two sonar sources. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2011, 407, 81–96.
- Dailey, M.D. Parasitic diseases. In *CRC Handbook of Marine Mammals Medicine*, 2nd ed.; Dierauf, L.A., Gulland, F.M.D., Eds.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, USA, 2001; pp. 357–379.

- Danil K.; Chivers S.J. Growth and reproduction of female short-beaked common dolphins, *Delphinus delphis*, in the eastern tropical Pacific. *Can. J. Zool.* 2007. 85: 108-121
- De Burolet, H.M. Zur Entwicklungsgeschichte des Walschädels III. Das primordiale Cranium eines Embryo von *Balaenoptera rostrata* (105 mm). *Morph. Jb.* 1914, 49, 119–178.
- Dold, C.; Ridgway, S. Cetaceans. In *Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*; West, G., Heard, D., Caulkett, N., Eds.; Wiley-Blackwell: Ames, IA, USA, 2007; pp. 485–496.
- Dormer, K.J. The mechanism of sound production and recycling in delphinids: Cineradiographic evidence. *J. Acoust. Soc. Am.* 1979, 65, 229.
- Dover, S.R.; Van Bonn, W. Flexible and rigid endoscopy in marine mammals. In *CRC Handbook of Marine Mammals Medicine*, 2nd ed.; Dierauf, L., Gulland, M.D., Eds.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, USA, 2001; Volume 27, pp. 621–642.
- Drabek, C.M., and Kooyman, G.L., 1984, Histological development of the terminal airways in pinniped and sea otter lungs, *Can. J. Zool.*, 62: 92–96.
- Eales, N.B. The skull of the foetal narwhal *Monodon monoceros* L. *Phil. Trans. R. Soc.* 1950, 235, 1–33.
- Field, D.J.; Campbell-Malone, R.; Goldbogen, J.A.; Shadwick, R.E. Quantitative computed tomography of humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) mandibles: Mechanical implications for rorqual lunge-feeding. *Anat. Rec.* 2010, 293, 1240–1247.
- Fraser, F.C.; Purves, P.E. Hearing in cetaceans—evolution of the accessory air sacs and the structure and function of the outer and middle ears in recent cetaceans. *Bull. Br. Mus.* 1960, 7, 1–140.
- García de los Ríos y Loshuertos, A.; Ocaña, O. Cetáceos de Ceuta y Aguas Próximas: Estudio Faunístico, Ecológico y Veterinario de los Cetáceos de Ceuta, Estrecho de Gibraltar y Mar de Alborán; Septem Nostra: Ceuta, Spain, 2006; pp. 1–150.
- García de los Ríos, A.; Arencibia, A.; Soler, M.; Gil, F.; Martínez, F.; López, A.; Ramírez, G. A study of the head during prenatal and perinatal development of two fetuses and one newborn Striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*, Meyen 1833) using dissections, sectional anatomy, CT, and MRI: Anatomical and functional implications in cetaceans and terrestrial mammals. *Animals* 2019, 9, 1139.
- García de los Ríos y Loshuertos, A.; Soler Laguía, M.S.; Arencibia Espinosa, A.A.;

- López Fernández, A.L.; Covelo Figueiredo, P.C.; Martínez Gomariz, F.M.; Sánchez Collado, C.S.; García Carrillo, N.G.; Ramírez Zarzosa, G.R. Comparative Anatomy of the Nasal Cavity in the Common Dolphin *Delphinus delphis* L., Striped Dolphin *Stenella coeruleoalba* M. and Pilot Whale *Globicephala melas* T: A Developmental Study. *Animals* 2021, 11, 441.
- García Monterde, J.; Gil Cano, F. *Embriología Veterinaria: Un Enfoque Dinámico del Desarrollo Animal; Inter-médica: Buenos Aires, Argentina, 2013; pp. 1–185.*
- García Párraga, D.; Moore, M.; Fahlman, A. Pulmonary ventilation–perfusion mismatch: A novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 2018, 285, 20180482.
- Gatesy, J.; Geisler, J.H.; Chang, J.; Buell, C.; Berta, A.; Meredith, R.W.; Springer, M.S.; McGowen, M.R. A phylogenetic blueprint for a modern whale. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2013, 66, 479–506
- Girard, G.; Lagacé, A.; Higgins, R.; Béland, P. Adenocarcinoma of the salivary gland in a beluga whale (*Delphinapterus leucas*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 1991, 3, 264–265.
- Green, R.F.; Ridgway, S.H.; Evans, W.E. Functional and descriptive anatomy of the bottlenosed dolphin nasolaryngeal system with special reference to the musculature associated with sound production. In *Animal Sonar Systems*; Busnel, R.G., Fish, J.F., Eds.; Plenum Press: New York, NY, USA, 1980; pp. 199–238.
- Hampe, O.; Franke, H.; Hipsley, C.A.; Kardjilov, N.; Muller, J. Prenatal cranial ossification of the humpback whale (*Megaptera novaeangliae*). *J. Morphol.* 2015, 276, 564–582.
- Harper, C.J.; McLellan, W.A.; Rommel, S.A.; Gay, D.M.; Dillaman, R.M.; Pabst, D.A. Morphology on the melon and its tendinous connections to the facial muscles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J. Morphol.* 2008, 269, 820–839.
- Harrel, J.H.; Reiderson, T.H.; McBain, J.; Sheetz, H. Bronchoscopy of the bottlenose dolphin. In *Proceedings of the 27th International Association for Aquatic Animal Medicine Conference (IAAAM), Chattanooga, TN, USA, 11–15 May 1996; pp. 11–15.*
- Heithaus, M.R.; Dill, L.M. Feeding strategies and tactics. In *Encyclopedia of Marine Mammals, 2nd ed.*; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2009; pp. 414–423.
- Heyning, J.E. Comparative facial anatomy of beaked whales (Ziphiidae) and a systematic

- revision among the families of extant odontoceti. Nat. Hist. Mus. Los Angel. Cty. 1989, 405, 1–59.
- Heyning, J.E.; Mead, J. Evolution of the nasal anatomy of cetaceans. In Sensory Abilities of Cetaceans; Thomas, J., Kastelain, R., Eds.; Plenum Press: New York, NY, USA, 1990; pp. 67–79.
- Hohn, A.A. Age estimation. In Encyclopedia of Marine Mammals, 2nd ed.; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 11–17.
- Hosokawa, H.; Kamiya, T. Sections of the dolphin's head (*Stenella coeruleoalba*). Sci. Rep. Whales Res. Inst. 1965, 19, 105–133.
- Honigmann, H. Bau und entwicklung des knorpelschadels vom Buckelwal. Zoology 1917, 69, 1–87.
- Houser, D.S.; Finneran, J.; Carder, D.; Van Bonn, W.; Smith, C.; Hoh, C.; Mattrey, R.; Ridgway, S. Structural and functional imaging of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) cranial anatomy. J. Exp. Biol. 2004, 207, 3657–3665.
- Huggenberger, S.; Ridgway, S.H.; Oelschläger, H.H.; Kirschenbauer, I.; Vogl, T.J.; Klima, M. Histological analysis of the nasal roof cartilage in a neonate sperm whale (*Physeter macrocephalus* - Mammalia, Odontoceti). Zool. Anz. 2006, 244, 229–238.
- Huggenberger, S.; Rauschmann, M.A.; Volg, T.J.; Oelschläger, H. Functional morphology of the nasal complex in the harbor porpoise (*Phocoena phocoena* L.). Anat. Rec. 2009, 292, 902–920.
- Huggenberger, S.; Oelschläger, H.; Cozzi, B. Atlas of the Anatomy of Dolphins and Whales; Academic Press, Elsevier: London, UK, 2019; pp. 1–513.
- Johnston, C.; Deméré, T.A.; Berta, A.; Yonas, J.; Leger, J. Observations on the musculoskeletal anatomy of the head of a neonate gray whale (*Eschrichtius robustus*). Mar. Mammal. Sci. 2010, 26, 186–194.
- Kellogg, A.R. The history of the whales: Their adaptation to life in the water. Q. Rev. Biol. 1928, 3, 29–76.
- Ketten, D.R. Functional Analyses of Whale Ears: Adaptations for Underwater Hearing, I.E.E.E. Proceedings in Underwater Acoustics, vol. I, 264 - 270..
- Kienle, S.S.; Ekdale, E.G.; Reidenberg, J.S.; Deméré, T.A. Tongue and Hyoid Musculature and Functional Morphology of a Neonate Gray Whale (Cetacea, Mysticeti,

Eschrichtius robustus). *Anat. Rec.* 2015, 298, 660–674.

- Klima, M. Cetacean phylogeny and systematics based on the morphogenesis of the nasal skull. *Aquat. Mamm.* 1995, 21, 79–89.

- Klima, M. Development of the cetacean nasal skull. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 1999, 149, 1–143.

- Klima, M. Development of the cetacean nasal skull. *Mar. Mammal Sci.* 2001, 17, 425–426.

- Lacave, G.; Eggermont, M.; Verslycke, T.; Kinoshita, R. Prediction from ultrasonographic measurements of the expected delivery date in two species of bottlenose. *Vet. Rec.* 2004, 154, 228–233.

- Lambertsen, R.H.; Hintz, R.J. Maxillomandibular cam articulation discovered in North Atlantic minke whale. *J. Mammal.* 2004, 85, 446–452.

- Lawrence, B.; Schevill, W.E. The Functional Anatomy of the Delphinid Nose. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 1956, 114, 103–151.

- Lawrence, B.; Schevill, W.E. Gular musculature in delphinids. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 1965, 133, 1–65.

- Liste, F.; Palacio, J.; Ribes, V.; Alvarez-Clau, A.; Fernández, L.; Corpa, J.M. Anatomic and Computed tomography atlas of the head of the newborn bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*). *Vet. Radiol. Ultrasound.* 2006, 47, 453–460.

- Macleod, C.C.; Reidenberg, J.S.; Weller, M.; Santos, M.B.; Herman, J.; Goold, J.; Piercel, G.J. Breaking symmetry: The marine environment, prey size, and the evolution of asymmetry in cetacean skulls. *Anat. Rec.* 2007, 290, 539–545.

- McLelland, J. *A Colour Atlas of Avian Anatomy*; Wolfe Publishing Ltd.: Aylesbury, UK, 1990; p. 113.

- McFee, W.E.; Schwacke, J.H.; Stolen, M.K.; Mullin, K.D.; Schwacke, L.H. 2009 Investigation of growth phases for bottlenose dolphins using a Bayesian modeling approach. *Marine mammal science*, 26(1), 67–85.

- Marino, L.; Murphy, T.L.; Lyad, G.; Johnson, J.I. Magnetic resonance imaging and three-dimensional reconstructions of the brain of a fetal common dolphin, *Delphinus delphis*. *Anat. Embryol.* 2001, 203, 393–402.

- McGeady, T.A.; Quinn, P.J.; Fitzpatrick, E.S.; Ryan, M.T.; Kilroy, D.; Lonergan, P. *Veterinary Embryology*; Wiley Blackwell: Oxford, UK, 2017; pp. 1–400.

- Mead, J.G. Anatomy of the external nasal passages and facial complex in the delphinidae (Mammalia: Cetacea). *Smithson. Contr. Zool.* 1975, 207.
- Mead, J.G.; Fordyce, R.E. The therian skull. A lexicon with emphasis on the odontocetes. *Smithson. Contr. Zool.* 2009, 627, 1–248.
- Montie, E.W.; Schneider, G.E.; Ketten, D.R.; Marino, L.; Touhey, K.E.; Hahn, M.E. Neuroanatomy of the subadult and fetal brain of the atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*) from in situ magnetic resonance images. *Anat. Rec.* 2007, 290, 1459–1479.
- Moran, M.M.; Numella, S.; Thewissen, J.G.M. Development of the skull of the pantropical spotted dolphin (*Stenella attenuata*). *Anat. Rec.* 2011, 294, 1743–1756.
- Nickel, R.; Schummer, A.; Seiferle, E. *The Anatomy of the Domestic Animals. The Locomotor System of the Domestic Mammals*; Verlag Paul Parey: Berlin/Hamburg, Germany, 1986; Volume 1, pp. 1–499.
- Numella S., Thewissen J.G.M., Bajpai S., Hussain T., Kumar K. (2007). Sound transmission in archaic and modern whales: anatomical adaptations for underwater hearing. *The Anatomical Record* 290: 716–733.
- O Corry-Crowe, G.M. Beluga whale. In *Encyclopedia of Marine Mammals*, 2nd ed.; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 108–112.
- O'Rahilly, R.; Müller, F. *Developmental Stages in Human Embryos*; Carnegie Institute: Washington, DC, USA, 1987; pp. 1–637.
- Perrin, W.F.; Holts, D.B.; Miller, R.B. Growth and reproduction of the eastern spinner dolphin, a geographical form of *Stenella longirostris* in the eastern tropical pacific. *Fish Bull.* 1977, 75, 725–750.
- Pilliet et Boulart. L'estomac des Cétacés. *Journ. de l'Anat. et de la Physiol.*, An. 32, 1895.
- Pouchet, M.G.; Beaugard, H. Sur "l'organe des spermaceti". *Comptes Rendus Soc. Biol.* 1885, 11, 343–344.
- Pyenson, N.D.; Goldbogen, J.A.; Vogl, A.W.; Szathmary, G.; Drake, R.L.; Shadwick, R.E. Discovery of a sensory organ that coordinates lunge feeding in rorqual whales. *Nature* 2012, 485, 498–501.
- Raga, J.A.; Fernández, M.; Balbuena, J.A.; Aznar, F.J. Parasites. In *Encyclopedia of*

Marine Mammals, 2nd ed.; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 821–830.

- Rauschmann, M.A.; Huggenberger, S.; Kossatz, L.S.; Oelschläger, H.H.A. Head morphology in perinatal dolphins: A window into phylogeny and ontogeny. *J. Morphol.* 2006, 267, 1295–1315.

- Raven, H.C.; Gregory, W.K. The spermaceti organ and nasal passages of the Sperm Whale (*Physeter catodon*) and other odontocets. *Am. Mus. Novitatis.* 1993, 677, 1–18.

- Racicot, A.; Berta, A. Comparative morphology of porpoise (Cetacea: Phocaeidae) pterygoid sinuses: Phylogenetic and functional implications. *J. Morphol.* 2013, 274, 49–62.

- Reidenberg, J.S.; Laitman, J.T. Anatomy of the hyoid apparatus in Odontoceti (toothed whales): Specializations of their skeleton and musculature compared with those of terrestrial mammals. *Anat. Rec.* 1994, 240, 598–624.

- Reidenberg, J.S.; Laitman, J.T. Sisters of the sinuse cetacean air sacs. *Anat. Rec.* 2008, 291, 1389–1396.

- Reidenberg, J.S.; Laitman, J.T. Cetacean prenatal development. In *Encyclopedia of Marine Mammals*, 2nd ed.; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 220–230.

- Reidenberg, J.S.; Laitman, J.T. Generation of sound in marine mammals. In *Handbook of Mammalian Vocalization—An Integrative Neuroscience Approach*; Brudzynski, S.M., Ed.; Academic Press/Elsevier: London, UK, 2010; pp. 451–465.

- Reiderson, T.H.; McBain, J.; Harrel, J.H. The use of bronchoscopy and fungal serology to diagnose *Aspergillus fumigatus* lung infection in a bottlenose dolphin. In *Proceedings of the 27th International Association for Aquatic Animal Medicine Conference (IAAAM)*, Chattanooga, TN, USA, 11–15 May 1996; pp. 11–15.

- Ridewood, W.G. Observations on the skull in foetal specimens of whales of the genera *Megaptera* and *Balaenoptera*. *Phil. Trans. R. Soc.* 1922, 211, 209–272.

- Rommel, S.A.; Pabst, D.A.; McLellan, W.A. Skull anatomy. In *Encyclopedia of Marine Mammals*, 2nd ed.; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 1033–1056.

- Roston, R.A.; Roth, V.L. Cetacean Skull Telescoping Brings Evolution of Cranial Sutures into Focus. *Anat. Rec.* 2019, 302, 155–1073.

- Roston, R.A.; Lickorish, D.; Buchholtz, E.A. Anatomy and age estimation of an early blue whale (*Balaenoptera musculus*) fetus. *Anat. Rec.* 2013, 296, 709–722.
- Rowles, T.K.; Frances, M.; Dolah, V.; Hohn, A.A. Gross necropsy and specimen collection protocols. In *CRC Handbook of Marine Mammals Medicine*, 2nd ed.; Dierauf, L., Frances, M., Gulland, M.D., Eds.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, USA, 2001; Volume 21, pp. 449–470.
- Sadler, T.W. *Langman Embriología Médica con Orientación Clínica*, 9th ed.; Panamericana: Buenos Aires, Argentina, 2004; pp. 145–146.
- Sandoval, J. *Tratado de Anatomía Veterinaria. Tomo III: Cabeza y Sistemas Viscerales*; Imprenta Sorles: León, Spain, 2000; pp. 1–457.
- Schaller, O. *Illustrated Veterinary Anatomical Nomenclature*; Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, Germany, 1992; pp. 1–614.
- Schenkkan, E.J. The occurrence and position of the "connecting sac" in the nasal tract complex of small odontocetes (Mammalia, Cetacea). *University of Amsterdam. Beaufortia* 1971, 246, 37–43.
- Schenkkan, E.J. On the comparative anatomy and function of the nasal tract in odontocetes (Mammalia, Cetacea). *Bijdr. Dierkd.* 1973, 43, 127–159.
- Schenkkan, E.J.; Purves, P.E. The comparative anatomy of the nasal tract and the function of the spermaceti organ in the physeteridae (Mammalia, Odontoceti). *Bijdr Dierkd* 1973, 43, 93–112.
- Schulte, H.W. The sei whale (*Balaenoptera borealis*, Lesson). Anatomy of a foetus of *Balaenoptera borealis*. *Monographs of the Pacific Cetacea. Mem. Am. Mus. Nat. Hist. New Ser.* 1916, 1, 389–499.
- Sokolov, V.E.; Volkova, O.V. Structure of the dolphin's tongue. In *Morphology and Ecology of Marine Mammals*; Chapskii, K.K., Sokolov, V.E., Eds.; Halsted Press (John Wiley & Sons): New York, NY, USA, 1973; pp. 119–127.
- Sterba, O.; Klima, M.; Schildger, B. Embryology of dolphins. Staging and ageing of embryos and fetuses of some cetaceans. *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.* 2000, 157, 1–133.
- Thewissen y Hussain, 1993. Thewissen J.G., Hussain S.T. (1993). Origin of underwater hearing in whales. *Nature. Vol. 361 (6411): 444-445.*
- Thewisen, J.G.M.; Cohn M.J.; Stevens L. S.; Bajpai S.; Heyning J.; Horton, W. E. 2006.

Developmental basis for hind-limb loss in dolphins and origin of the cetacean bodyplan. PNAS. 103(22): 8414-8418.

- Thewissen, J.G.M.; Cooper, L.N.; George, J.C.; Bajpai, S. From land to water: The origin of whales, dolphins, and porpoises. *Evol. Educ. Outreach* 2009, 2, 272–288.

- Thewissen, J.G.M.; Heyning, J.E. Embryogenesis and development in *Stenella attenuata* and other cetaceans. In *Reproductive Biology and Phylogeny in Cetacea, Whales, Dolphins and Porpoises*; Miller, D.L., Ed.; Science Publishers: Enfield, NH, USA, 2007; pp. 307–330.

- Tsang, W.K.; Kinoshita, R.; Rouke, N.; Yuen, Q.; Hu, W.; Lam, W.K. Bronchoscopy of Cetaceans. *J. Wildl. Dis.* 2002, 38, 224–227.

- Van Bonn, W.; Cranford, T.; Chaplin, M.; Carder, D.; Ridgway, S. Clinical Observations During Dynamic Endoscopy of the Cetacean Upper Respiratory Tract. IAAAM 1997. Available online: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=3864239&pid=11257&> (accessed on 16 March 2021).

- Werth, A.J. Adaptations of the cetacean hyolingual apparatus for aquatic feeding and thermoregulation. *Anat. Rec.* 2007, 290, 546–568.

- *Whales of the World*; Brill, E.J. (Ed.) Bess Pr Inc.: Leiden, The Netherlands, 1988; pp. 1–310.

- Whitlow, W.L. Echolocation. In *Encyclopedia of Marine Mammals*, 2nd ed.; Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 348–357.

- Wilkie Tinker, S. *Whales of the World*; Brill, E.J., Ed.; Bess Pr Inc.: Leiden, The Netherlands, 1988; pp. 1–310.

- Yamasaki, F.; Satomi, H.; S.; Kamiya, T. An observation on the papillary projections at the lingual margin in the striped dolphin. *Sci. Rep. Whales Res. Inst.* 1976, 28, 137–140.

- Yamasaki, F.; Kamiya, T. Taste buds in the pits at the posterior dorsum of the tongue of *Stenella coeruleoalba*. *Sci. Rep. Whales Res. Inst.* 1978, 30, 285–290.

- Yamato M., Ketten D.R., Arruda J., Cramer S., Moore K. The auditory anatomy of the minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*): a potential fatty sound reception pathway in a baleen whale. *The Anatomical Record.* 2012, 295: 991–998.

- Yoshimura, K.; Kobayashi, K. A comparative morphological study on the tongue and the

lingual papillae of some marine mammals - Particularly of four species of odontoceti and zalophus -. *Shigaku Odontol.* 1997, 85, 385–407.

APÉNDICE

IX. APÉNDICE

Artículo 1

Article Metrics

Citations

Crossref



2

Scopus



2

PubMed



2

PMC



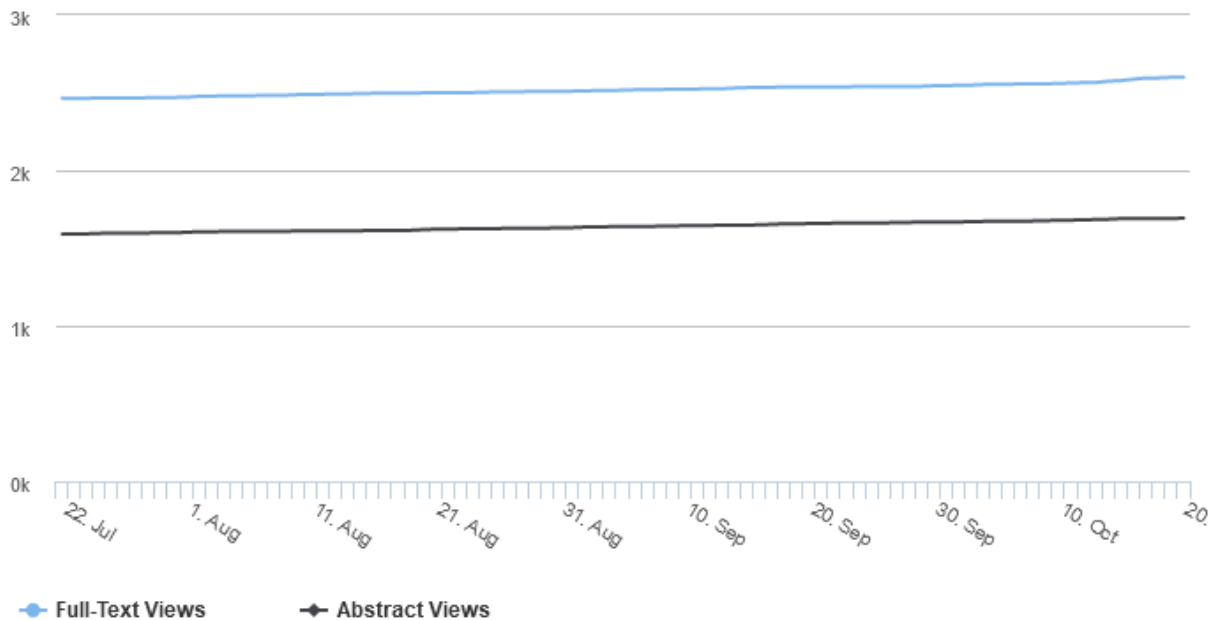
2

Google Scholar

[\[click to view\]](#)

Article Access Statistics

Article access statistics



Artículo 2

Article Metrics

Citations

Crossref



4

Scopus



4

PubMed



2

PMC



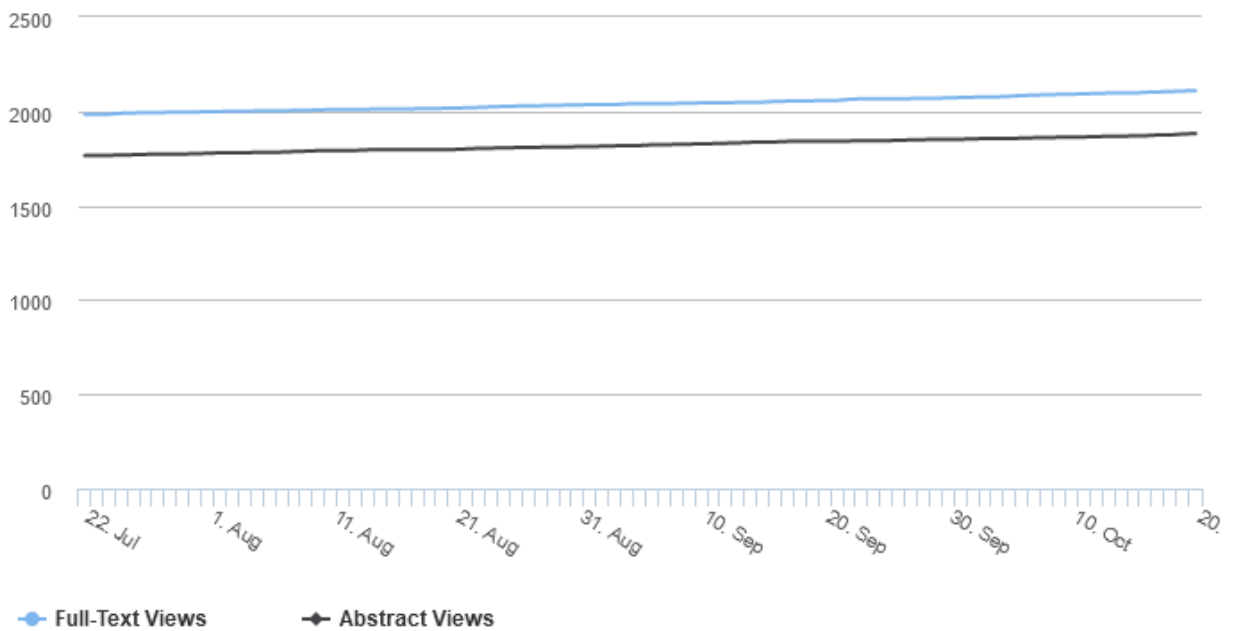
2

Google Scholar

[click to view]

Article Access Statistics

Article access statistics



Artículo 3

Article Metrics

Citations

Crossref

Google Scholar

0

[\[click to view\]](#)

Article Access Statistics

Article access statistics

