



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DEL RIÑÓN DE LA TORTUGA
TARICAYA (*Podocnemis unifilis*) NACIDA EN UN CENTRO DE
CONSERVACIÓN EN EL DEPARTAMENTO DE MADRE DE DIOS**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO VETERINARIO**

**MARICLAUDIA CAROLINA TACURI GUTIÉRREZ
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

LIMA-PERÚ

2017

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
III.MATERIALES Y MÉTODOS	12
IV. RESULTADOS	20
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	30
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
Anexos	35

DEDICATORIA

- A mis seres queridos que me apoyaron en diferentes ocasiones por los cuales pase durante este difícil camino de mi carrera, pero sobre todo a mis padres Pedro y Greliá, por aguantarme en toda la travesía y por ser mi sostén para poder alcanzar mis metas en ser profesional.

AGRADECIMIENTO

- A mi asesora Mg. MVZ. Nancy Carlos por la paciencia que tuvo conmigo y por el gran apoyo para la realización de mi tesis.
- A los Médicos Veterinarios de la Universidad Alas Peruanas, Mg. M.V. Lyana Quispe y M.V. Nidia Puray que me apoyaron en mi proyecto de tesis, y también a mi buen amigo y colega M.V. Dick Acurio muy agradecida por su tiempo y todos sus consejos.
- A la Reserva Ecológica Taricaya, ubicado en el departamento de Madre de Dios, y al Blg. Raúl Bello por las facilidades brindadas y una oportunidad para realizar la presente investigación a favor de la conservación de la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*).

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo describir las estructuras histológicas del riñón de la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*) nacida en un Centro de Conservación en el departamento de Madre de Dios. El estudio se realizó en la “Reserva Ecológica Taricaya”, que tiene un programa de incubación artificial y liberación de la tortuga Taricaya. Se contó con una muestra de 30 animales, fallecidos por causas naturales en el primer mes de vida durante el periodo de diciembre de 2015 a febrero de 2016, éstos fueron colectados y conservados en formol al 10% y fueron enviados a la ciudad de Lima. En el laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas, se procedió a realizar la necropsia de los individuos, se ubicó y diseccionó los riñones. Posteriormente se elaboró la lámina histológica con la tinción de Hematoxilina - Eosina, luego se realizó la lectura de las láminas con un microscopio óptico de luz y se digitalizó las respectivas imágenes. Se realiza la primera descripción histológica del riñón de la tortuga Taricaya, identificando que la cápsula renal formada por tejido conectivo denso, no hubo diferenciación entre corteza y médula, los corpúsculos renales están en ambas zonas y conformados por la cápsula de Bowman, por espacio de Bowman y de un glomérulo. Los túbulos contorneados distales y proximales están compuestos de un epitelio cúbico simple. Los hallazgos muestran variabilidad a lo referente a otros reptiles, en quelonios principalmente se encuentra similitud en la cápsula renal, túbulos renales y corpúsculos renales, pero cierta variación en la diferenciación de la zona cortical y medular.

PALABRAS CLAVE: Riñón, Hematoxilina y Eosina, histología, necropsia, microscópica.

ABSTRACT

The present research aimed to describe the histological structures of the kidney of the Yellow-spotted Amazon River (*Podocnemis unifilis*) born in a Conservation Center in the department of Madre de Dios. The study was conducted in the "Taricaya Ecological Reserve", which has an artificial incubation program and release of the tortoise. There was a sample of 30 animals, killed by natural causes in the first month of life during the period from December 2015 to February 2016, were collected and preserved in 10% formaldehyde and sent to the city of Lima. In the Central laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the University Alas Peruanas, the necropsy of the individuals was carried out, the kidneys were located and dissected. Subsequently the histological sheet was prepared with Hematoxylin - Eosin staining, then the plates were read with light microscopy and the respective images were digitized. The first histological description of the kidney of the Taricaya turtle was made, identifying a renal capsule formed by dense connective tissue, there was no differentiation between cortex and marrow, renal corpuscles are in both areas and conformed by Bowman's capsule, Bowman's space and a glomerulus. Distal and proximal contoured tubules composed of a simple cubic epithelium are described. The findings show variability in relation to other reptiles. In chelonians, there is mainly similarity in the renal capsule, renal tubules and renal corpuscles, but a certain variation in the differentiation of the cortical and medullary zone.

KEY WORDS: Kidney, Hematoxylin - Eosin, histology, necropsy, microscopic

I. INTRODUCCIÓN

La tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*) es un reptil dulceacuícola que habita los ríos en las selvas amazónicas de Ecuador, Colombia, Brasil y Perú. En general, las tortugas son fundamentales para el ecosistema porque ayudan a equilibrar la población de otros organismos acuáticos. En la actualidad, esta especie es de gran importancia ecológica y reproductiva, así como económica y cultural. Sin embargo, es susceptible al tráfico de fauna silvestre, ya que son criadas como mascotas y también para aprovechar el consumo de carne y huevo que son una fuente importante de proteínas. Debido a esto se considera como una especie en estado vulnerable. En algunos lugares de la Amazonía peruana se realizan trabajos de incubación artificial para asegurar y fomentar su conservación.

Por otro lado, los estudios sobre la anatomía en reptiles progresaron mucho en los últimos años, pero en algunas especies son pocas estudiadas. Las características o descripción microscópica y macroscópica de los órganos brindan información importante sobre la fisiología del animal, al conocer la morfología celular y tisular nos ayudara a interpretación de su función. Además, servirá como herramienta diagnóstica para el reconocimiento de las estructuras histológicas normales o anormales. En tortugas o quelonios, existen pocas referencias respecto a la descripción microscópica del riñón, como el realizado en el sistema urogenital de la tortuga de río Sabanera (*Podocnemis vogli*) en Colombia; sin embargo, según la bibliografía consultada no hay referencia para la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*).

Debido a la importancia y estado de conservación de la tortuga Taricaya, es importante realizar estudios que brinden información sobre su anatomía. Por lo cual, el objetivo del presente estudio fue describir las características histológicas del riñón de la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*) nacida en un Centro de Conservación, información importante porque permite dilucidar y comprender la fisiología renal, así como enriquecer el programa de incubación artificial y liberación. Además, se brindó una herramienta a manera de guía para el diagnóstico de posibles anomalías, aportando en el manejo y medicina de este quelonio en cautiverio. Asimismo, se buscó promover investigaciones en esta y otras especies no estudiadas, favoreciendo la conservación de esta y otras especies en peligro de extinción y/o vulnerable.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Tortuga Taricaya (*Podocnemis uniflis*)

2.1.1. Morfología

Es una tortuga dulceacuícola con un tamaño medio de 40 cm (longitud máxima 50 cm), y un peso aproximado de 9 a 12 kg. Se distingue de los otros miembros de la familia por tener el caparazón convexo y ovalado que alcanza su máxima anchura a nivel medio y poseer una o dos bárbulas bajo el mentón en las poblaciones del Orinoco y dos en las del Amazonas. El primer escudo marginal es un poco más ancho que largo y es la única dentro del género que posee los marginales posteriores levantados o revertidos y generalmente carece de un surco entre las órbitas. Sobre el puente se presentan tres poros axilares y uno inguinal. Las patas son completamente palmeadas (Anexo 1) (1).

Las crías se reconocen por las vistosas manchas amarillo-naranja sobre la cabeza y la presencia de una carena medial especialmente agudaza sobre el segundo y tercero escudos vertebrales. Las marcas cefálicas amarillas se distribuyen de la siguiente manera: una mancha redondeada sobre cada margen lateral de la escama interparietal, una sobre el extremo del rostro, otra sobre el tímpano y dos sobre la ranfoteca maxilar, como en la tortuga charapa estas manchas sólo son retenidas por los machos adultos y se desvanecen en las hembras maduras (1).

El color del caparazón varía entre café oscuro o negro y el plastrón es grisáceo. Las hembras son más grandes que los machos (50 cm versus 33,5 de longitud del espaldar), y estos últimos retienen el patrón de coloración característico de las crías y

juveniles, aunque más apagado, además poseen las colas más largas y gruesas y tienen la muesca anal más pronunciada. El iris es negruzco en las hembras y verde-amarillento en los machos y juveniles (1).

En general, el macho difiere de la hembra en que: 1) es de menor tamaño; 2) tiene la cola más desarrollada, particularmente desde la base hasta el ano; 3) la muesca anal del peto es más amplia; 4) la cabeza presenta manchas amarillas; y 5) el iris del ojo es de color verdusco (en las hembras es negruzco). Estas diferencias no se observan en las crías y juveniles (2).

2.1.2. Taxonomía

Orden	: Testudines
Suborden	: Pleurodira
Familia	: Podocnemididae
Género	: <i>Podocnemis</i>
Especie	: <i>Podocnemis unifilis</i> (2)

2.1.3. Nombres comunes e indígenas

Se la conoce comúnmente como Tortuga de Río de Pintas Amarillas, Teracay, Taricaya, Charapa, Tracaxá, Tarricayá, Peta de agua, Terecayá, Anayurí, Charapa pequeña, Tracaja (hembra) y Zé prego (macho) en Brasil, y en inglés Yellow-spotted River Turtle (1, 2).

2.1.4. Distribución geográfica

La distribución en el sistema hidrográfico de la Amazonía y Orinoquia en Colombia, Venezuela, Brasil, Perú, Ecuador, Bolivia y las Guayanas (Anexo 2). En Colombia se encuentra en los Llanos orientales, y en el sistema de ríos de aguas blancas de la

Amazonía como el Putumayo, el Guaviare y Guayabero, el Caquetá, el Caguán y el el bajo Mirití-Paraná, donde es muy escasa (1).

2.1.5. Hábitat

La tortuga taricaya habita en los caños secundarios tributarios de los grandes ríos y no tiene preferencia muy marcada por las aguas negras o blancas. Durante la estación lluviosa migra hacia los lagos y los bosques inundados donde los ejemplares inmaduros permanecen por periodos de tiempo más prolongados que los de su congénere la tortuga charapa (*Podocnemis expansa*). Sólo habitan en los grandes ríos durante el verano cuando es la estación de anidamiento (1).

2.1.6. Comportamiento

A diferencia de la charapa, la tortuga Taricaya no forma congregaciones de anidación y si bien anida en playas arenosas, también pone en barrancos franco arcillosos y otra gran variedad de substratos. La temporada de reproducción se inicia un poco más temprano que de la charapa, y abarca desde finales de enero hasta comienzos de marzo en los Llanos orientales y de octubre a febrero para las poblaciones de la Amazonía y coincide con los meses más secos del año (1).

Aún cuando prefiere desovar individualmente, se han evidenciado casos de hasta 20 hembras por noche anidando colectivamente en la misma playa; el tamaño de la postura oscila entre 11 y 32 huevos de forma oblonga (44 x 30 mm) y con cáscara calcárea quebradiza que tardan alrededor de 50 – 70 días en incubarse (1).

Las hembras maduran cuando tienen un tamaño superior a los 30 cm, en tanto que los machos lo hacen cuando superan los 20 cm. Los ejemplares maduros suelen congregarse en los remansos, cercanos a los lugares de desove, para asolearse en tierra firme o encaramadas sobre los troncos que sobresalen del agua y de esta forma ayudar a la maduración de los huevos. Las crías pueden permanecer dentro de los

huevos hasta 7 días después de haber roto la cáscara y esperar hasta dos semanas dentro del nido, antes de emerger a la superficie (1).

2.1.7. Alimentación

Es una tortuga herbívora que consume una gran variedad de plantas acuáticas (jacintos), hierbas, frutos y todo tipo de material alóctono, ocasionalmente ingiere pequeños animales como moluscos, crustáceos, huevos de peces e incluso carroña. Las crías practican la neustofagia o succión del neustrón suspendido en la superficie del agua (1).

2.1.8. Depredadores naturales

Los huevos son fácilmente localizados y consumidos por el lobo pollero o teyú colombiano (*Tupinambis teguixin*), en especial cuando los nidos son ubicados cerca de la línea de la vegetación ribarina. Las crías son depredadas por aves rapaces, garzas, garzones, caimanes y una gran variedad de peces (1).

En tanto, los adultos son comidos por el jaguar (*Panthera onca*), el caimán llanero o caimán del Orinoco (*Crocodylus intermedius*) y la babilla (*Caiman c. crocodilus*). Por sus preferencias menos marcadas por las playas arenosas planas, la taricaya sufre una reducida mortalidad de los nidos por efecto de las crecientes inesperadas de los ríos (1).

2.1.9. Estado de conservación

La tortuga Taricaya tiene una gran importancia en la economía de los pobladores ribereños como fuente de alimento (en forma de carne y huevos) y de ingresos, a través del comercio local de estos productos (3).

La Taricaya (*P. unifilis*) registra una importante demanda comercial por lo que la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) la categoriza en su apéndice II para controlar su comercialización y evitar su incompatibilidad con su conservación (4). La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) categoriza a este reptil en estado vulnerable (IUCN) (5). Según el Decreto Supremo N°04–2014-MINAGRI, promulgado el 8 de abril del 2014, en el territorio peruano se categoriza a la tortuga Taricaya como una especie en estado vulnerable (6).

2.2. Características descriptivas del riñón en reptiles

2.2.1. Ubicación anatómica y descripción macroscópica

Los riñones de las tortugas se encuentran en la membrana celómica, debajo del caparazón en el límite caudal de los pulmones (7), localizándose en la porción caudoventral del caparazón y son metanéfricos (8). Ubicados posterior al acetábulo, excepto en las tortugas marinas que están generalmente anteriores al acetábulo (9).

En las tortugas, los riñones son grandes y lobulados, de color rojizo y están bajo la concavidad del caparazón, en el extremo caudal de la cavidad corporal (Anexo 3). Una proyección de los riñones se encuentra bajo la línea de sutura que une la tercera y cuarta placa pleural (10).

En la tortuga marina laúd (*Dermochelys coriacea*), los riñones están emparejados, las estructuras de color rojo lobular, elípticas que se encuentran retroperitoneal (entre el peritoneo y la cáscara). Los riñones de tortugas marinas son metanéfrico, lo que significa que surgen de la parte posterior de la cresta del nefrón en el embrión y los túbulos renales son drenados por los uréteres (conductos metanéfricos) (11).

El análisis de las partes disecadas de la especie de la tortuga terrestre de patas rojas (*Geochelone carbonaria*), así como fotografías digitalizadas, pudieron comprobar que los riñones son órganos compactos, con forma piramidal, coloración rojo oscuro, mostrando toda su superficie un revestimiento de numerosas circunvoluciones dando un aspecto cerebroide. El posicionamiento de los riñones en correspondencia con el casco, puede hacer que la proyección externa de la misma de estar situado entre el 3º y 4º escudos laterales, situados en la cáscara y apoyados contra la porción caudal de la membrana celómica en el tercio distal del cuerpo, craneal al acetábulo, y las posteriores a los ovarios de las hembras, y en los machos al estrecho contacto con el testículo y el epidídimo con la región del hilio renal (12).

En la especie tortuga Sabanera (*Podocnemis vogli*), identificaron que los riñones se encontraron dorsalmente dentro de la cavidad celómica en contacto en su borde craneal con los pulmones, en la zona media con la aorta descendente, y su porción caudal con el caparazón, ventral a ellos se encontraron los intestinos (13).

2.2.2. Descripción microscópica

Hay pocas investigaciones en reptiles sobre la descripción histológica del riñón, existen algunos estudios llevados a cabo en quelonios como en la tortuga marina laúd (*Dermochelys coriacea*) (11) y tortuga terrestre de patas rojas (*Geochelone carbonaria*) (12) y la tortuga Sabanera (*Podocnemis vogli*) (13); en Cocodrilianos como el realizado en el caimán de anteojos (*Caiman crocodilus*) (15), y también en Saurios como el camaleón velado (*Chamaleo calyptratus*) y la iguana verde (*Iguana iguana*) (14), así como en la lagartija egipcia (*Uromastix microlopis*) (16) y la lagartija con punta de franja de Bosc (*Acanthodactylus boskianus*) (17).

Hernández y col. realizaron un estudio con el objetivo de realizar la descripción microscópica de los órganos genitourinarios de diez individuos de la tortuga Sabanera (*Podocnemis vogli*). Para esta especie describe que los riñones presentan dos zonas, una cortical externa y una medular, en las cuales se evidenció la presencia del aparato yuxtglomerular, conformados por glomérulos de un tamaño reducido, y una cápsula de Bowman también reducida. Estos glomérulos se encontraron en pocas cantidades y la cápsula de Bowman posee un epitelio plano simple. Una característica importante fue la alta presencia de túbulos contorneados estrechos con epitelio cúbico simple, que difieren de los colectores de mayor calibre y de las asas de Henle (13).

Según Wyneken, la tortuga marina laúd (*Dermochelys coriacea*), así como otras tortugas marinas, carecen de una corteza y médula renal distinta. Las nefronas de tortugas marinas están compuestas de una cápsula renal, túbulo proximal (que está relacionado con el transporte de agua y la síntesis de proteínas), un segmento intermedio (función desconocida), túbulo contorneado distal (responsable de la reabsorción de líquidos) y el túbulo colector (drenaje de los uréteres). No hay asa de Henle como se encuentra en los nefrones de mamíferos. A diferencia de los vertebrados superiores, tortugas marinas conservan la capacidad de formar nuevas nefronas funcionales a medida que maduran (y tal vez en toda la vida) (11).

Según Faria, T, observó los riñones de la especie de la tortuga terrestre de patas rojas (*Geochelone carbonaria*), presentan una cápsula externa de tejido conectivo y los glomérulos de Malpighi formado por una red capilar de meandros entre sí. Al igual que en los mamíferos, también tienen cápsula de Bowman con dos folletos: el parietal y visceral, así como el regazo. Los túbulos que presentan como contorneado proximal están formadas por una sola capa de células cúbicas, con luz y un pequeño borde en cepillo tubular. En el citoplasma de las células cúbicas, allí gránulos mucosos neutros. El Asa de Henle está formada por una sola capa de células cilíndricas (12).

Bonvehí y col., describen la estructura renal del camaleón velado (*Chamaleo calypratus*) y de la iguana verde (*Iguana iguana*), refiriendo que el riñón tienen pelvis ni pirámides, ni están divididos en médula y córtex. Se componen de unos pocos miles de nefronas relativamente cortas y con menor vascularización glomerular en comparación con otras especies. El glomérulo se continúa con el segmento del cuello, el túbulo proximal y el segmento intermedio, todos ellos con células cuboidales ciliadas, y el túbulo distal, cuyas células no tienen cilios. No hay asa de Henle, por lo que los riñones no pueden producir orina hipertónica. Al túbulo distal le sigue el denominado segmento sexual, cuyas células aumentan en los machos en época de celo, y a continuación la nefrona desemboca en el conducto colector (14).

Cabrera y García realizaron la descripción histológica de los riñones del caimán de anteojos (*Caiman crocodilus*), revelando la presencia de un parénquima lobulado con una cápsula de tejido conectivo denso regular rodeada por tejido conectivo laxo e infiltrada con algunos folículos linfáticos. El parénquima está dividido en dos hemilóbulos separados por un plexo de vasos sanguíneos. La región cortical está constituida principalmente por túbulos rectilíneos y paralelos entre sí, perpendiculares a la cápsula orgánica. La región medular se caracteriza por la presencia de porciones del túbulo proximal descendente y túbulo distal, así como por la abundancia de asas intermedias que conectan a los ya citados túbulos (15).

Según Khalef y Ata, las secciones transversales de los riñones de la lagartija egipcia (*Uromastix microlopis*) mostraron que el riñón está rodeado de una cápsula muy fina, compuesta de la fibra reticular y el músculo liso, algunas pérdidas de nefronas de Henle y túbulos urinarios, todos unidos por tejido conectivo. El examen microscópico reveló que los glomérulos consistían en dos polos, el polo urinario y polo vascular rodeado con tejido conectivo, rodeado por la cápsula de Bowman, que tiene dos capas: exterior e interior. En las capas corticales y medulares no se distingue el límite entre ellas a comparación con la histología de otros vertebrados, también se notaron muy pocas las nefronas y la ausencia de la Asa de Henley, mientras que todos los túbulos urinarios estaban unidos por tejido conectivo (16).

Yari y Gharzi describen el sistema excreto de la lagartija con punta de franja de Bosc (*Acanthodactylus boskianus*), el cual consta de dos riñones, dos uréteres y una cloaca, todos los cuales contribuyen a la composición final de la orina. Cada riñón se compone de siete a ocho lóbulos. Las secciones transversales de los riñones mostraron que está rodeado por una cápsula muy fina, compuesto de fibras reticulares y los músculos lisos. No hay una frontera clara entre la corteza y la médula. Los resultados también aclararon que los glomérulos tienen dos polos, urinario y vascular. Se encontraron cuatro tipos de segmentos tubulares en cada nefrona (17).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Espacio y tiempo

El presente estudio se realizó con la colecta de tortugas fallecidas de manera natural, dentro del “Programa de incubación artificial de la tortuga Taricaya” llevado a cabo en el Centro de Conservación “Reserva Ecológica Taricaya”, ubicado al margen derecho del río Madre de Dios, provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios. El trabajo se realizó diseccionando las muestras en el laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas y remitiendo las láminas histológicas en el laboratorio de Patología. Las muestras fueron colectadas de diciembre del 2015 y febrero del 2016.

3.2. Población y muestra

Los quelonios utilizados en el estudio forman parte del Programa de incubación artificial previamente mencionado, los cuales han eclosionado y muerto por causas naturales durante el primer mes de edad. Debido a esto el muestreo será no probabilístico por conveniencia, contando con una muestra de 30 individuos cría de sexo indeterminado. Las tortugas presentaron un peso promedio de $18,34 \pm 5,08$ gr y una medida del largo recto del caparazón de $3,93 \pm 0,87$ cm.

Al nacer las crías, fueron mantenidas en una poza de 1 m^2 con $0,3 \text{ m}^3$ de agua la cual fue acondicionada con ramas y palos, cercado con malla raschel al 80% para evitar la entrada de depredadores. Las tortugas se mantuvieron estabuladas hasta su liberación o colecta en caso que murieran después de eclosionar, siendo alimentadas dos veces al día con comida para peces (como verdolaga). El Centro reporta un 4% de mortalidad de crías post eclosión, generalmente relacionadas con causas naturales (18).

3.3. Diseño de la investigación

Esta investigación es de tipo no experimental descriptiva, se basó en describir la histología del riñón de la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*). Este estudio se inició con la previa autorización necesaria. Luego fueron colectados y conservados en formol al 10% en un frasco de boca ancha, y fueron enviados al departamento de Lima. Se realizaron las necropsias, obteniéndose los riñones con ayuda del estereoscopio y un estuche entomológico, siendo registradas en una ficha de necropsia (Anexo 4) (19), luego se remitieron las muestras en el laboratorio para la elaboración de las láminas histológicas. Siendo después interpretadas con el microscopio óptico para luego sacar las conclusiones pertinentes.

3.4. Equipos y procedimientos

3.4.1. Equipos

a) Muestra biológica o unidad de análisis

- Riñón

b) Sujeto de estudio

- Tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*)

c) Material de campo

- Vestimenta de trabajo
- Formol 10%
- Frascos boca ancha
- Guantes de jebe
- Caja de transporte
- 2 pinzas de disección sin dientes

d) Material de necropsia

- Balde y bandeja
- Campo descartable

- Guantes de látex y mascarilla 3M
- Hojas de bisturí N°21
- Mangos de bisturí
- Tijera y pinzas entomológicas
- Alcohol 80%
- Frascos pequeños (30 ml) boca ancha herméticos
- Bolsas herméticas
- Lápiz, lapicero y plumón indeleble

e) Elaboración de láminas

- Láminas portaobjeto
- Láminas cubreobjeto
- Tinción Hematoxilina y Eosina
- Tacos de parafina
- Micrótopo
- Caja porta láminas

f) Material de laboratorio

- Alcohol isopropílico
- Papel lente
- Microscopio óptico (Modelo Leica DM759)
- Cámara incorporada (Modelo Leica ICC50 HD)
- Estereoscopio Leica Zoom 2000
- Placas Petri de vidrio
- Paños absorbentes

g) Material de escritorio

- Papel bond A4
- Tabla porta hojas
- Lapiceros, lápiz y plumón indeleble

h) Material de equipos electrónicos

- Cámara fotográfica, Laptop.
- Programa “Leica Application Suite” v. 4.1.0 Leica Microsystems® 2003-2012.

i) Servicios

- Transporte
- Impresión, copias

j) Recursos humanos

- Investigador
- Asesores

3.4.2. Procedimiento

3.4.2.1. Autorización y permisos

El estudio se dio inicio luego de la aprobación del proyecto de Tesis por parte de la Facultad de Medicina Veterinaria. Además, se contó con el permiso para captura y colecta de especies de fauna silvestres, brindada por el Ministerio de Agricultura, con el número de Resolución Directoral N°271-2014-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS (Anexo 5).

3.4.2.2. Colecta de los individuos

En el programa de conservación, durante el monitoreo diario hacían dos turnos para vigilar a las crías de la Taricaya, en la mañana y en la tarde con un intervalo entre 6 a 8 horas. Con guantes de látex y pinzas se tomaron a los especímenes que se hallaron muertos de manera natural y se colocaron en frasco hermético de boca ancha que contenía formol a 10% para su conservación. Cada frasco fue rotulado con información del individuo así como la fecha de colecta.

3.4.2.3 Envío de las muestras

Los frascos debidamente rotulados y sellados con un táper hermético (Parafilm M ®), fueron enviados por vía terrestre hasta la Ciudad de Lima para su análisis.

3.4.2.4 Recepción de las muestras

Las muestras (frascos) se recibieron en el laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas. Se procedió a cambiar el medio de fijación (Formol 10%) con el de conservación con alcohol al 80 %, con el fin de conservar de manera apropiada la muestra y evitar que se degraden los órganos.

3.4.2.5 Protocolo de necropsia

En el laboratorio Central, se realizó la necropsia siguiendo las medidas de bioseguridad necesaria como la utilización de guantes de látex descartable, mascarilla y mandil o chaqueta.

- Se colocó a la tortuga en posición decúbito dorsal encima de una bandeja con un campo descartable, y se realizó el examen externo.
- Se hace una incisión a lo largo de la línea que junta el plastrón al caparazón (puede hacerse con un bisturí en tortugas pequeñas). Una vez que el plastrón ha sido removido, pueden verse los músculos pectorales.
- Abriendo el peto se expusieron y se cortaron los músculos alrededor de las aletas y se retuercen las aletas anteriores desarticulándolas de su unión con el caparazón. Esto permite ver el corazón, el hígado, los intestinos, una porción de los pulmones y la pelvis (20).
- Para la extracción del riñón, se colocó a la tortuga en una placa Petri y se obtuvo una mejor vista con ayuda del estereoscopio.

- Observando a través del estereoscopio, se identificó los riñones, éstos se encontraron en la zona lumbar craneal a las gónadas, siendo éstas de color marrón rojizo (Anexo 6).
- Con la ayuda de una pinza y tijera entomológica se extrajeron los riñones (derecho e izquierdo) de manera delicada.
- Finalmente a los riñones se colocaron en un frasco boca ancha con alcohol al 80%.
- Los riñones extraídos tienen una medida promedio de 6 x 3mm (largo x ancho).

3.4.2.6 Remisión de las muestras

Se tomaron muestras de ambos riñones con cortes longitudinales (Anexo 7), luego se remitieron a un laboratorio de Patología particular para elaborar las láminas histológicas, utilizando la tinción de hematoxilina y Eosina.

La tinción utilizada se eligió en base a la capacidad y practicidad de los colorantes Hematoxilina y Eosina, que diferencian los componentes ácidos y básicos de la célula (21) encontrándose en la mayoría de las estructuras del riñón, y teniendo como antecedentes los estudios previos sobre la descripción histológica del riñón en reptiles.

La técnica histológica de tinción de Hematoxilina y Eosina se realizó bajo el siguiente procedimiento:

- Desparafinado: permite eliminar el medio de inclusión, la parafina.
 - Xileno (2 por 10 minutos).
- Hidratación:
 - Etanol 100° (2 por 10 minutos)
 - Etanol 96° (10 minutos)
 - Etanol 80° (10 minutos)
 - Agua destilada (10 minutos)

- Tinción:
 - Hematoxilina (3 minutos)
 - Agua de grifo (15 minutos)
 - Agua destilada (2 por 10 minutos)
 - Eosina (30 segundos)
 - Agua destilada (10 minutos)
- Deshidratación: es necesaria porque el medio de montaje no suele ser hidrosoluble
 - Etanol 80° (10 minutos)
 - Etanol 96° (10 minutos)
 - Etanol 100° (2 por 10 minutos)
 - Xileno (2 por 10 minutos)
- Montado:
 - Tras el montado y secado (evaporación del xileno), las secciones se pueden observar con el microscopio (22).

3.4.2.7 Observación al microscopio

Las láminas histológicas se observaron en el microscopio óptico con cámara incorporada con medidas de 4x, 10x y 40x (Anexo 8). Se interpretaron las características histológicas del riñón como estructuras tubulares y glomerular, zonas renales, tejidos de revestimiento y parénquima, descripción de corpúsculos renales, segmentación glomerular, entre otros.

3.5 Diseño estadístico

El estudio no cuenta con diseño estadístico, al ser puramente descriptivo.

IV. RESULTADOS

Se realizó la descripción macroscópica del riñón, encontrando que estos órganos son pares, en forma de frijol, pequeños, de color marrón rojizo (Fig. 1). Se localizan en el exterior de la cavidad celómica, debajo del caparazón en el límite caudal de los pulmones.



Fig. 1. Riñón derecho e izquierdo de la tortuga Taricaya (*P. unifilis*).

Las descripciones histológicas de las estructuras del riñón de la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*), con la tinción de Hematoxilina -Eosina se observó en un microscopio óptico de luz, y se mencionan a continuación:

El riñón está formado por una fina cápsula renal de tejido conectivo denso (Fig. 2). Además, no se observa diferenciación entre la zona cortical y medular, evidenciando en todo el riñón una mínima presencia de corpúsculos renales (Fig. 3).

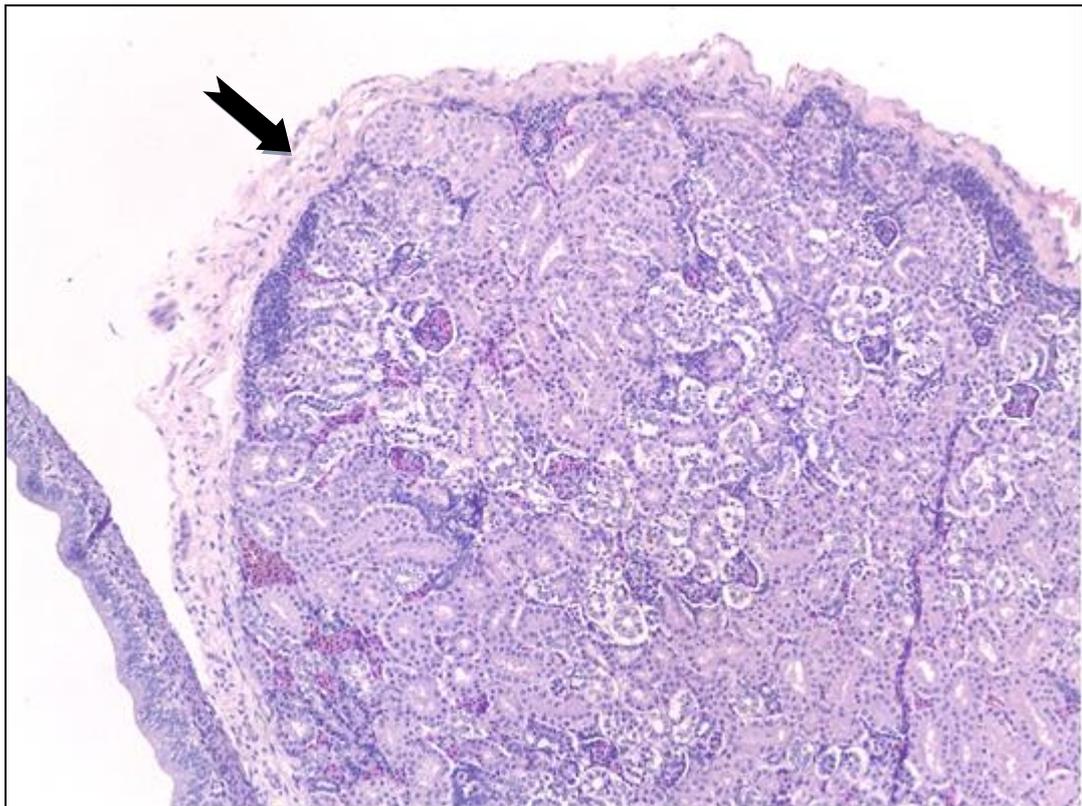


Fig. 2. Microfotografía del riñón de la tortuga Taricaya (*P. unifilis*), mostrando la cápsula renal (flecha gruesa).

Coloración: Hematoxilina-Eosina. 10x.

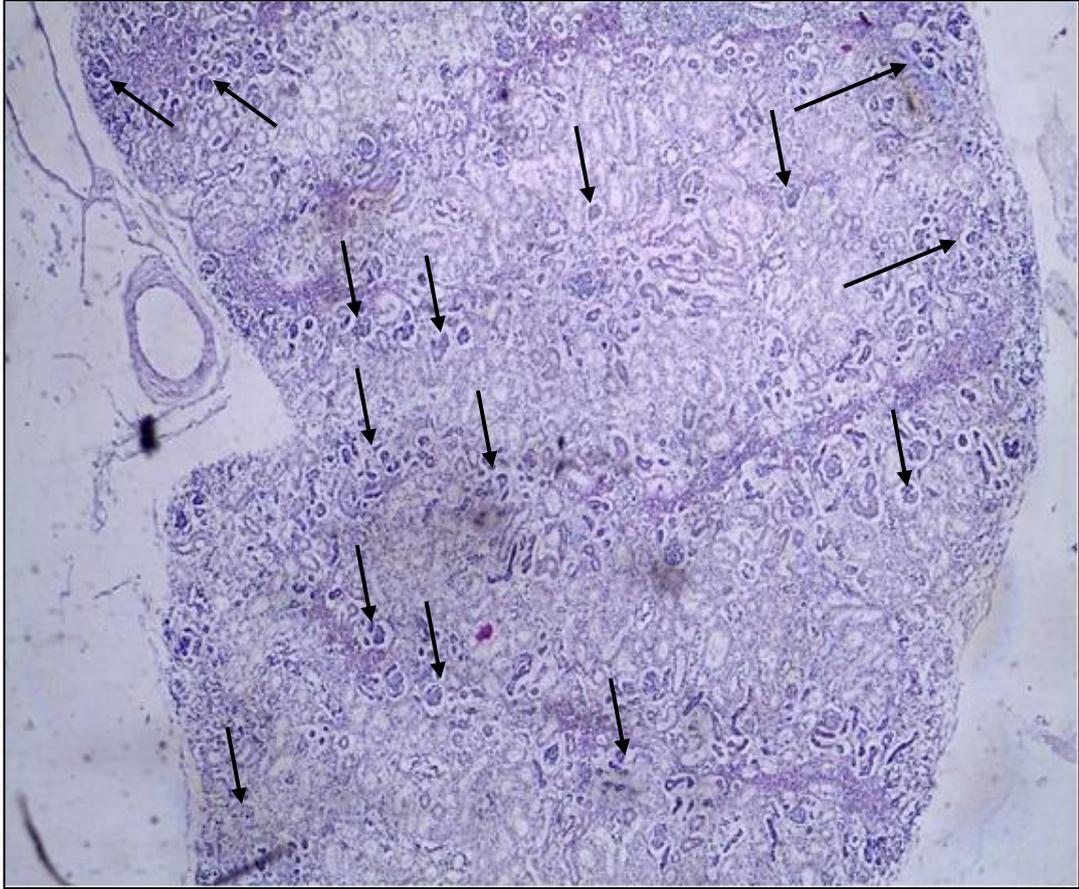


Fig. 3. Microfotografía del riñón de la tortuga Taricaya (*P. unifilis*), identificando que no hay diferencia entre corteza y médula, se observan los corpúsculos renales (flechas delgadas).

Coloración: Hematoxilina-Eosina. 4x.

En toda la zona del riñón se encontraron los corpúsculos renales que están conformados por la cápsula de Bowman (a), espacio de Bowman (b) y el glomérulo (c) (Fig.4):

- La cápsula de Bowman está formado por células planas y epitelio plano simple, encerrando al glomérulo, de tamaño reducido y presenta 2 capas, la capa visceral y la capa parietal.
- El espacio de Bowman se encuentra entre las capas viscerales y parietales, con el glomérulo, dentro de las cuales el líquido filtrado entra después de pasar a través de las ranuras de filtración.
- El glomérulo está formado por capilares que son los vasos sanguíneos, se encontraron en mínimas cantidades y de un tamaño reducido que se observó a través de un corte longitudinal.

En los túbulos renales se evidencia dos diferentes tipos de túbulos en toda la zona del riñón: En el túbulo contorneado proximal (a) se caracteriza por la presencia de un ribete en cepillo que ocupa parcialmente la luz tubular, y el túbulo contorneado distal (b) es más estrecho que el túbulo contorneado proximal y carece de ribete en cepillo; ambos túbulos están conformados por epitelio cúbico simple, núcleo basal redondo es basófilo (color azul), y el citoplasma es acidófilo (color rojo) (Fig. 5).

Por último, con respecto a la mácula densa que forma parte del túbulo contorneado distal, está formada por células epiteliales y es más visible ya que sus núcleos se encuentran en compacta agrupación (Fig. 6).

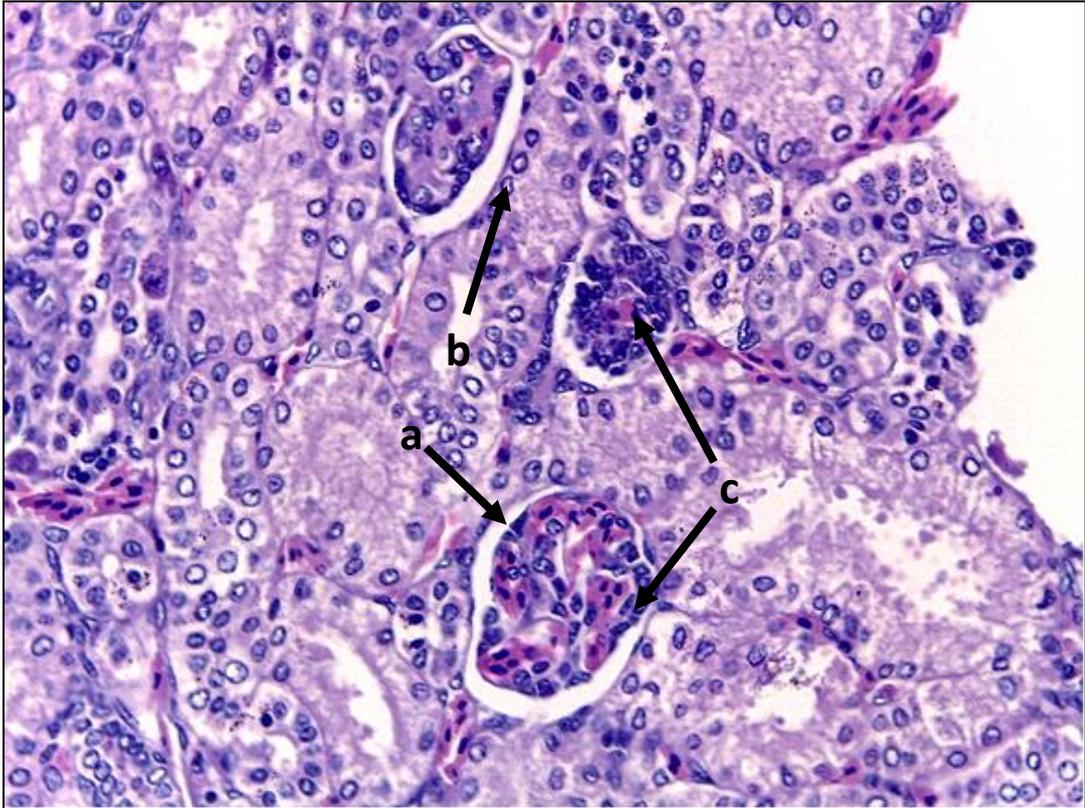


Fig. 4. Microfotografía del riñón de la tortuga taricaya (*P. unifilis*), se identifica un corpúsculo renal conformado por una cápsula de Bowman (a), un espacio de Bowman (b) y el glomérulo (c). Coloración: Hematoxilina-Eosina. 40x.



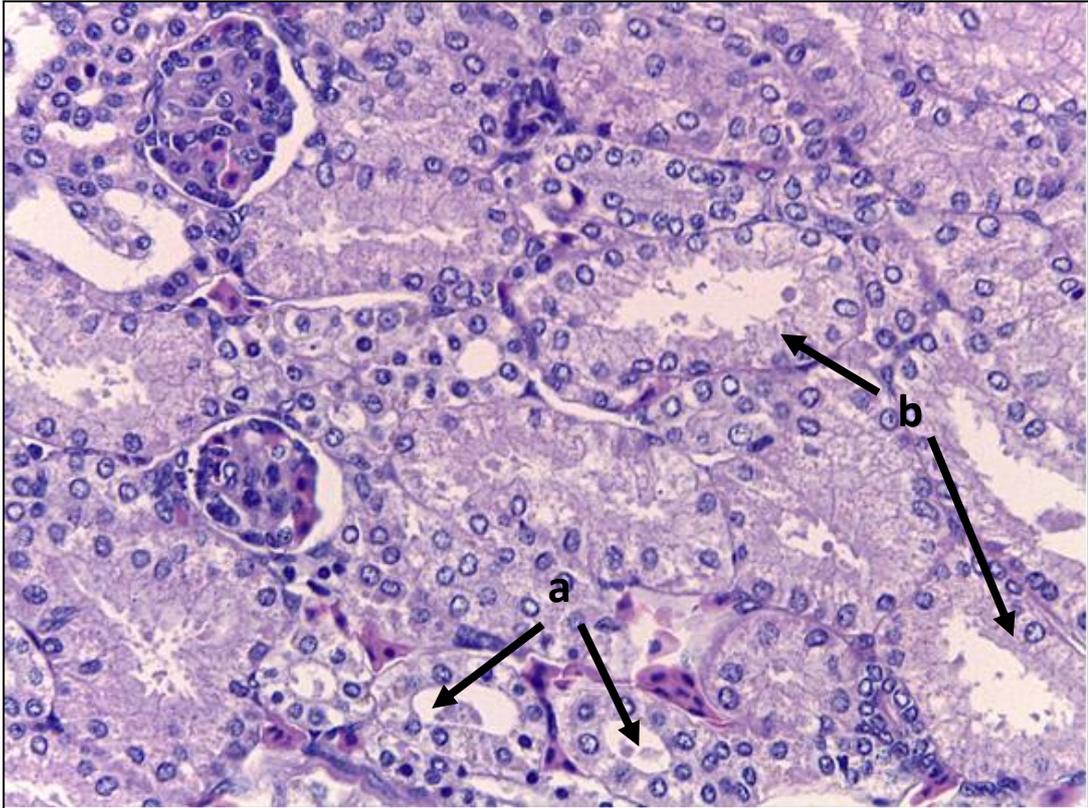


Fig. 5. Microfotografía del riñón de la tortuga taricaya (*P. unifilis*), se identifica los túbulos renales como el túbulo contorneado distal (a), y el túbulo contorneado proximal (b).

Coloración: Hematoxilina-Eosina. 40x.

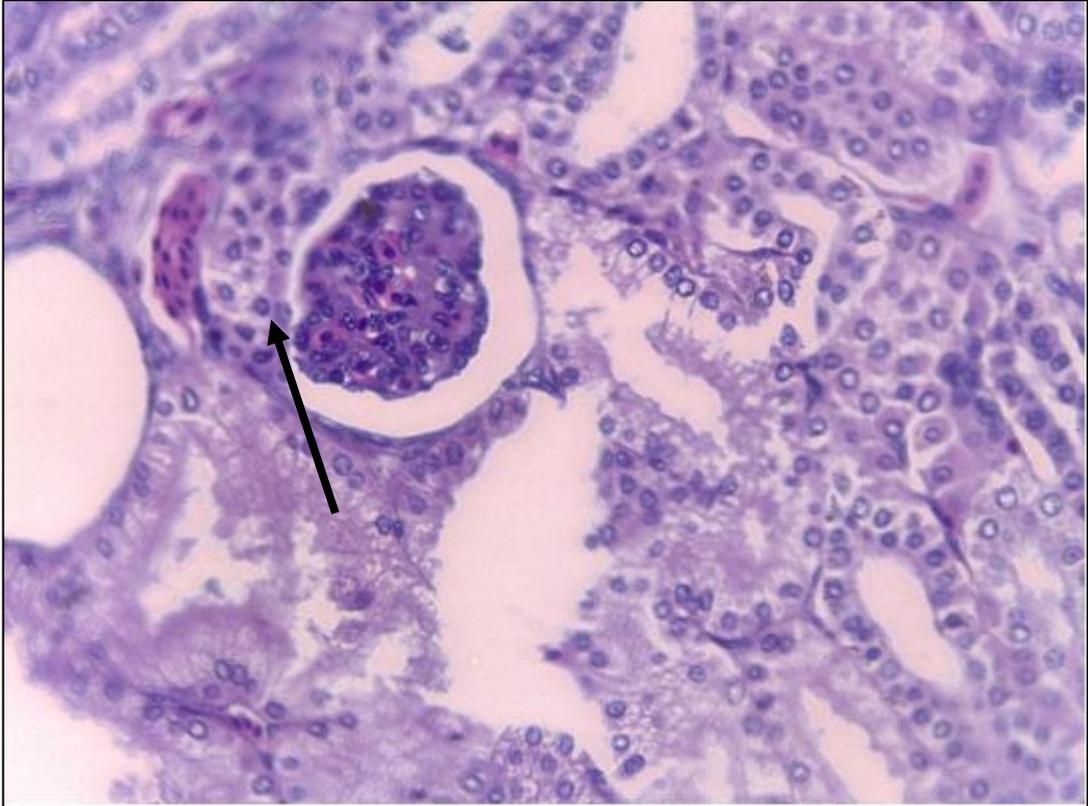


Fig. 6. Microfotografía del riñón de la tortuga Taricaya (*P. unifilis*), mostrando la mácula densa (flecha delgada).
Coloración: Hematoxilina-Eosina. 40x.

V. DISCUSIÓN

El presente estudio, según las referencias bibliográficas encontradas, es la primera descripción histológica del riñón de la tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*), contribuyendo así con información valiosa para la conservación de este quelonio en situación vulnerable. A continuación se discute las principales similitudes y diferencias encontradas con respecto a descripciones de diversas especies de reptiles.

En el presente estudio, los riñones de *P. unifilis* se localizaron en la cavidad celómica, craneal a los pulmones, ventral a los intestinos y caudal a las gónadas, similar a lo descrito en la tortuga sabanera (*Podocnemis vogli*); sin embargo, en esta última tortuga se menciona que la porción caudal del riñón está junto al caparazón (13), situación no observada en *P. unifilis*. Además, lo hallado en *P. unifilis* también fue similar a lo descrito en la tortuga terrestre de patas rojas (*Chelonoides carbonaria*), en donde los riñones se localizan posterior a las gónadas y craneal al acetábulo (12). Estas diferencias sutiles se puede deber al estado de maduración de los individuos estudiados (edad de las crías, juveniles y/o adultos), tamaño de muestra de cada estudio y/o particularidades propias de la especie.

Los riñones de *P. unifilis* son pequeños y en forma de frijol, de coloración marrón rojizo claro con la porción caudal más agudo que la porción craneal, a diferencia a lo descrito en la tortuga Sabanera (*P. vogli*) donde el riñón tiene forma angular, con los ángulos craneal y caudal más agudos (13). Así mismo, difiere con lo descrito en la tortuga terrestre de patas rojas (*G. carbonaria*), en la cual se observó que los riñones son órganos compactos, con forma piramidal, coloración rojo oscuro, mostrando toda su superficie un revestimiento de numerosas circunvoluciones dando un aspecto

cerebroide (12). Estas diferencias se puede deber al estado de maduración de los individuos estudiados (edad de las crías, juveniles y/o adultos) y/o particularidades propias de la especie, como se mencionó en el párrafo anterior.

En el análisis microscópico, se observó que la cápsula renal de *P. unifilis* es una capa fina con tejido conectivo denso, igual a lo descrito en la tortuga de laúd (*Dermochelys coriacea*) (11) y la tortuga terrestre de patas rojas (*G. carbonaria*) (12). En otros reptiles como el caimán de anteojos (*Caiman crocodilus*) se observó que el tejido conectivo está rodeado por tejido conectivo laxo e infiltrada con algunos folículos linfáticos (15), y en el caso de la lagartija egipcia (*Uromastix microlopis*) (16) y de la lagartija con punta de franja de Bosc (*Acanthodactylus boskianus*) (17) se describieron además fibras reticulares y de músculo liso en la composición. Las fibras reticulares se encuentran por debajo del endotelio de los capilares y le dan cierta rigidez a la cápsula renal; lo cual podría darle una ventaja a estas lagartijas ya que le brindaría mayor resistencia (23). En general la cápsula renal de los quelonios es idéntica o similar, diferenciándose de otros reptiles, posiblemente por procesos y como mecanismos adaptativos a diferentes hábitats que representan diferentes condiciones ambientales de temperatura y humedad, entre otras.

En *P. unifilis* no se pudo distinguir entre la zona de corteza y médula, similar a lo reportado en la tortuga de laúd (*D. coriacea*), esta no diferenciación de ambas zonas es una característica propia de tortugas marinas (11), similar a lo descrito el camaleón velado (*Chamaleo calyptratus*) y la iguana verde (*Iguana iguana*) (14), así como en la lagartija con punta de franja de Bosc (*A. boskianus*) (17). Sin embargo, se diferenciaron una zona cortical externa y medular en la tortuga Sabanera (*P. vogli*) (13) y caimán de anteojos (*C. crocodilus*) (15). Al parecer, la ausencia de diferenciación de ambas zonas no es exclusiva de tortugas acuáticas, tanto marinas como dulceacuícolas, a pesar de que *P. unifilis* y *P. vogli* pertenecen al mismo género *Podocnemis* y en algunos territorios pueden compartir territorio (1), no presentan esta similitud histológica. Lo cual podría deberse al estado de maduración de los individuos estudiados, ya que en *P.*

vogli se estudiaron individuos adultos a diferencia del presente estudio donde los individuos de *P. unifilis* fueron crías; además también podrían deberse a adaptaciones propias de cada especie.

Además, los corpúsculos renales están conformados por la cápsula de Bowman (con epitelio plano simple) y con dos capas, la parietal y visceral; el espacio de Bowman y un glomérulo (formado por una red capilar) tienen dos polos, urinario y vascular. Esto fue similar a lo reportado en la tortuga terrestre de patas rojas (*G. carbonaria*) (12), la lagartija egipcia (*U. microlopis*) (16) y la lagartija con punta de franja de Bosc (*A. boskianus*) (17). Según esto, los corpúsculos renales no se diferenciarían en gran medida en los reptiles; sin embargo, en *P. unifilis* se encontraron en mínimas cantidades a diferencia de los otros estudios mencionados. Los individuos de *G. carbonaria* (12) y *U. microlopis* (16) estudiados fueron adultos, en el caso de *A. boskianus* no se especifica la edad de los individuos (17). A diferencias de los individuos de este estudio que fueron crías, es posible que los corpúsculos sean menos predominantes en individuos de menor maduración, sin embargo es necesario mayores estudios.

Por último, se observó en *P. unifilis* que la presencia de los túbulos contorneados proximales se diferencia de los túbulos contorneados distales por la presencia de un ribete en cepillo que ocupa parcialmente la luz tubular, ambos túbulos están conformados por epitelio cúbico simple. Similar a lo descrito en la tortuga terrestre de patas rojas (*G. carbonaria*) (12) y la tortuga Sabanera (*P. vogli*) (13) y en el caimán de anteojos (*C. crocodilus*) (15). Según esto, los túbulos contorneados no se diferenciarían en gran medida en los reptiles.

VI. CONCLUSIONES

Se realiza la primera descripción histológica del riñón de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) identificando las siguientes estructuras:

- La cápsula renal está formada por tejido conectivo denso regular.
- No hubo diferenciación entre corteza y médula.
- Los corpúsculos renales están en ambas zonas y conformados por la cápsula de Bowman, por espacio de Bowman y de un glomérulo.
- Los túbulos contorneados distales y proximales están compuestos de un epitelio cúbico simple.
- Los hallazgos muestran variabilidad a lo referente a otros reptiles, en quelonios principalmente se encuentra similitud en la capsula renal, túbulos renales y corpúsculos, pero cierta variación en la diferenciación de la zona cortical y medular.

VII. RECOMENDACIONES

- Continuar con las investigaciones sobre las características histológicas en otros órganos u vísceras de la misma y otras especies que no han sido estudiadas.
- Realizar estudios en otros estados de desarrollo (juvenil y adulta), para evaluar las posibles diferencias en la maduración de los órganos.
- Elaborar artículos científicos o un libro de investigaciones sobre las características histológicas del género *Podocnemis*, ya que en la actualidad no hay referencias a otros estudios realizados.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rueda-Almoacid, J.; Carr, J. et al. Las tortugas y cocodrilianos de los países andinos del Trópico. Serie de guías tropicales de campo. Bogotá: Editorial Panamericana. 2007.
2. Vásquez, P.; Gagliardi, L. Dictamen de extracción no perjudicial de las poblaciones de taricaya (*Podocnemis unifilis*) para el cupo de exportación 2014. Lima, Perú. 2014.
3. Soini, P. Ecología y manejo de quelonios acuáticos en la Amazonía Peruana. En: Fang, T.G, R.E. Bodmer y R. Aquino (Eds). Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonía. Iquitos, Perú. 1997. p. 167.
4. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Apéndices I, II y III. 2016 [Revisado el 10 Agosto, 2016]. Available from: <http://www.cites.org>
5. International Union for Conservation of Nature. La Lista Roja de Especies Amenazadas 2014 [Revisado el 10 Agosto, 2016]. Available from: <http://www.iucnredlist.org>.
6. MINAGRI. 2014. Decreto Supremo N° 04-2014-MINAGRI. Categorización de especies amenazadas de fauna silvestre. D.S. 004-2014-MINAGRI. El Peruano, Martes 8 de abril del 2104.
7. Meredith, A.; Redrobe, Sh. Manual de Animales Exóticos. 4ta edición. España: Grafos S.A.; 2012.

8. Martín, R.; Marín, P.; González, J. Atlas de Anatomía de Animales Exóticos. Barcelona-España: Masson S.A; 2004.
9. Mader, Douglas. Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: Saunders Company; 1996.
10. Beynon, P.; Cooper, J. Reptiles (I): Quelonios. En: Jackson, O., editor. Manual de animales exóticos. Barcelona: Ediciones S; 1999. pp. 247-271.
11. Wyneken, J. The anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Florida. 2001. pp. 1-172.
12. Faria, T. Topografia e morfologia do sistema urinário de jabuti "*Geochelone carbonaria*" [Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias]. Sao Paulo: Universidade de Sao Paulo; 2003.
13. Hernández, W.; Rodríguez, J.; Astwood, J. Anatomía macroscópica y microscópica del sistema urogenital de la tortuga sabanera *Podocnemis vogli muller*, 1935 (*Testudines Pelomedusidae*). Orinoquia. 2013, 7(1):120-133.
14. Bonvehí, C.; Martín, A.; Ardiaca, M.; Montesinos, A. Patología Renal en lagartos. Animales exóticos. Madrid. 2008. 16(68).
15. Cabrera, J.; García, G. Histología del riñón de la Baba (*Caiman crocodilus crocodilus*). Rev Fac Cien. 2009. 50(2):67-76.
16. Khalef, N.; Ata, T. Histological study of Lizard kidney (*Uromastyx microlopis*). Diyala Agric Sci J. 2010. 2(2):1-8.

17. Yari, A.; Gharzi, A. Anatomical and histological study of the Excretory System in the Bosc's Fringe-Toed Lizard (*Acanthodactylus boskianus*). *Asian J Ani sci.* 2013. 7(1):30-35.
18. Bello, R., Rosemberg, F., et al. 2015. Repoblamiento de la taricaya *Podocnemis unifilis* (testudines: podocnemidae) en la parte baja del río Madre de Dios, sur este del Perú, periodo 2014. Informe de Investigación Científica. Resolución Directoral N° 271-2014-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.
19. Silvino, Z., Ramos, J., Catao, José. Tratado de Animais Selvagens Medicina Vererinaria. 1ª Edicao. Editora Roca Ltda. Sao Paulo. 2007. p. 987.
20. Moreno, B., Sandoval, M. Manual de técnicas de necropsia Patología General. Universidad Nacional Autónoma de México. 2006
21. Gartner, L., Hiatt, J. Texto Atlas de Histología. 2da Edición. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2002. p. 2.
22. Mejías, M.; Molist, P. et al. Atlas de histología vegetal y animal. Técnicas histológicas. Facultad de Biología. Universidad de Vigo. España. 2016.
23. Geneser, F. Histología. Editorial Médica Panamericana. Buenos aires. 1994.

ANEXOS

ANEXO 1

Figura 7. Hembra adulta de Taricaya procedente de Colombia.

Fuente: Rueda-Almonacid y col, 2007. (1).

ANEXO 2



Figura 8. Distribución geográfica en América del Sur de *P. unifilis*.

Fuente: Rueda-Almonacid y col, 2007. (1).

ANEXO 3

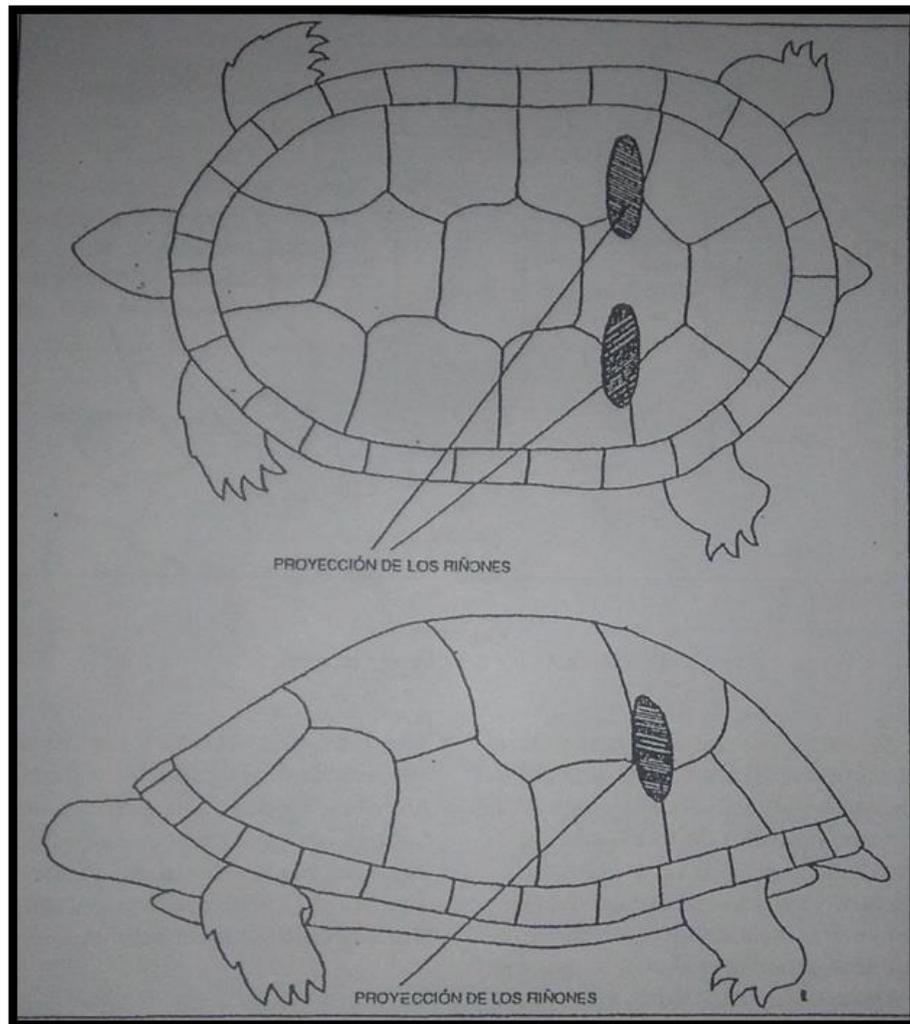


Figura 9. Proyección de los riñones en quelonios.

Fuente: Beynon, P. y Cooper, J. 1999. (10)

ANEXO 4

FICHA DE NECROPSIA	
N° de registro: _____ N° de necropsia: _____ N° de histopatología: _____	
1. Identificación del animal:	
Nombre popular: _____	
Especie: _____	
Clase: _____	
Familia: _____	
Sexo: _____	
Peso: _____	
Grupo de edad: _____	
2. Origen del animal:	
Procedencia: _____	
Identificación: _____	
3. Otras informaciones:	
Fecha de muerte: _____	
Fechas de conservación: _____	
Conservación del cadáver: () Sí () Enfriamiento () Congelamiento () No	
Condición de muerte: () Natural () Eutanasia	
Local de realización de la necropsia: _____	
Fecha de la necropsia: _____	
Necroscopista: _____	
4. Historia clínica: _____	
5. Suspensión clínica: _____	
6. Descripción necroscópica: _____	
7. Diagnóstico preliminar: _____	
8. Exámenes complementarios: _____	
9. Diagnósticos histopatológicos: _____	
10. Enfermedad principal: _____	
11. Causa de muerte: _____	

Figura 10. Ficha de necropsia utilizada en Laboratorio de Patología Comparada de Animales Salvajes del Departamento de Patología de Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Sao Paulo.

Fuente: Silvino, Z. y col, 2007 (18).

ANEXO 5

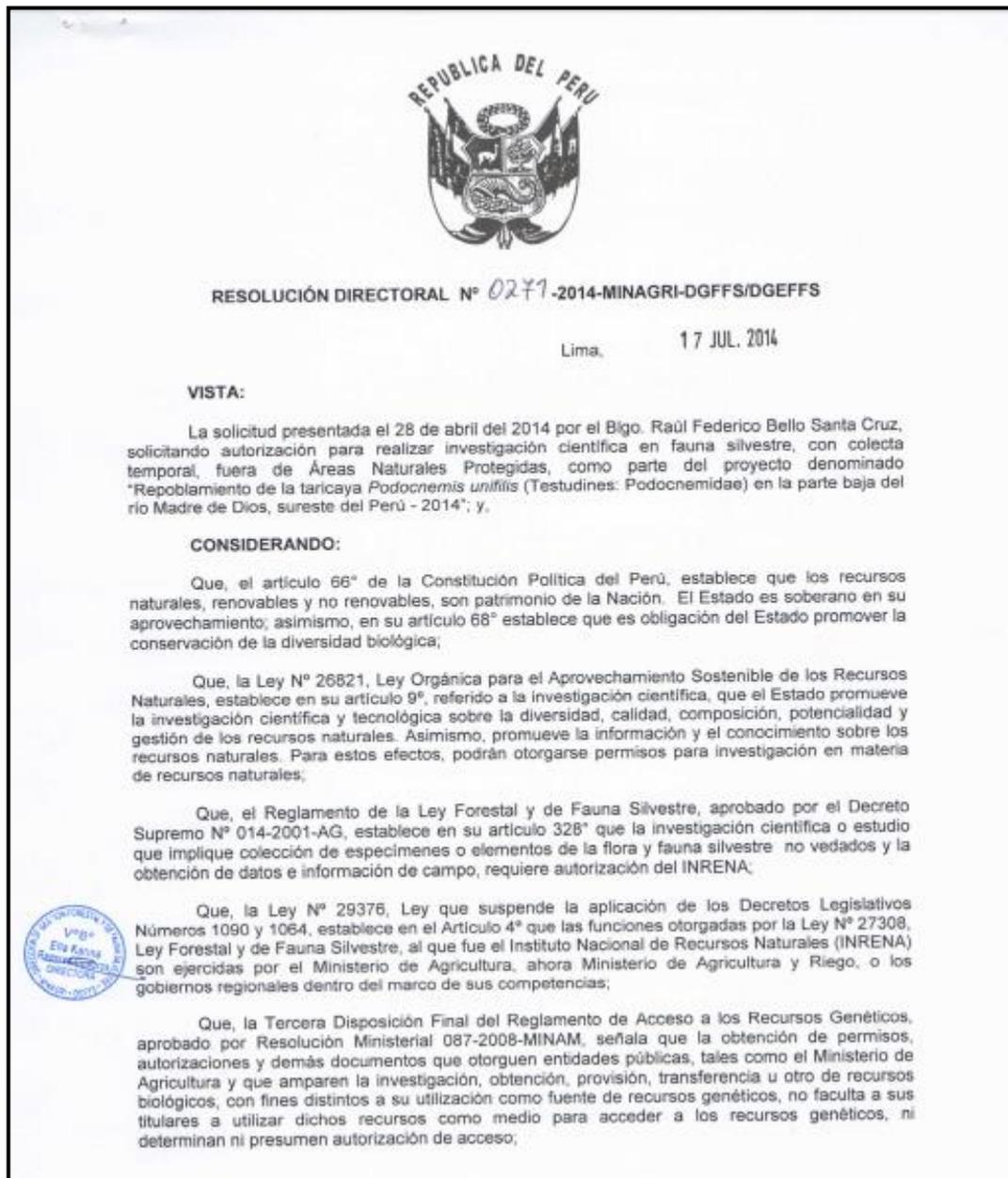


Figura 11. Autorización del Ministerio de Agricultura – INRENA.

Fuente: Ministerio de Agricultura - INRENA, 2014.

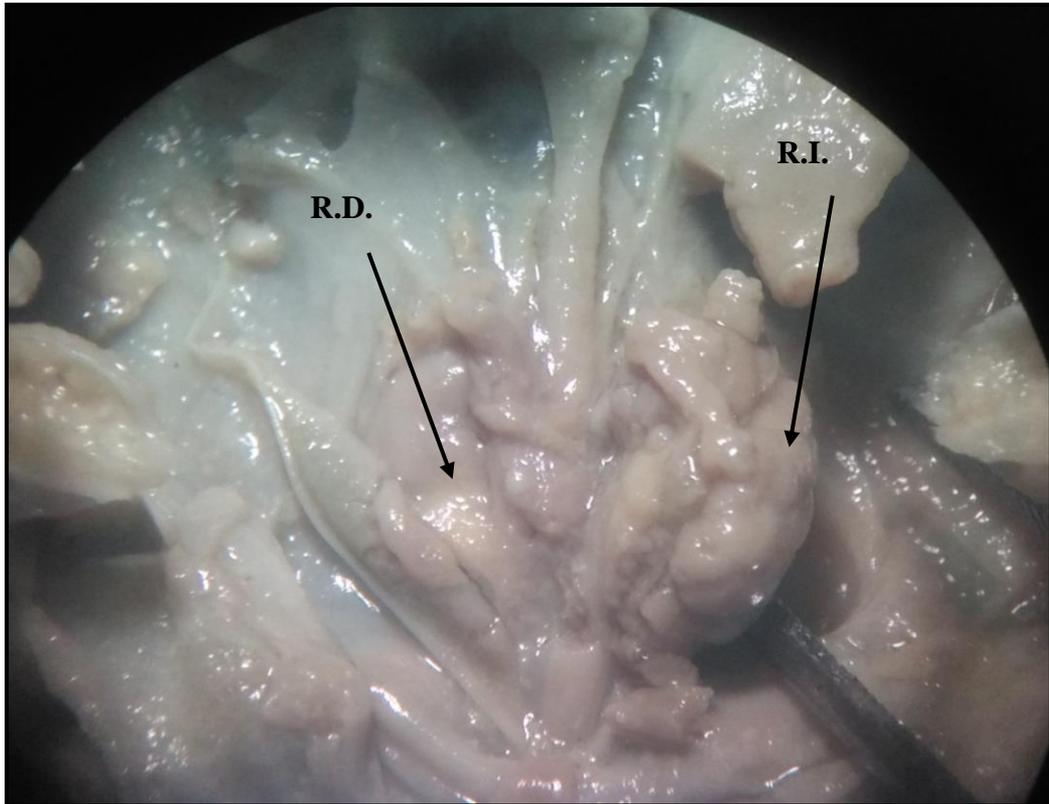
ANEXO 6

Figura 12. Observación a través del estereoscopio en donde se identificaron los riñones.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 7

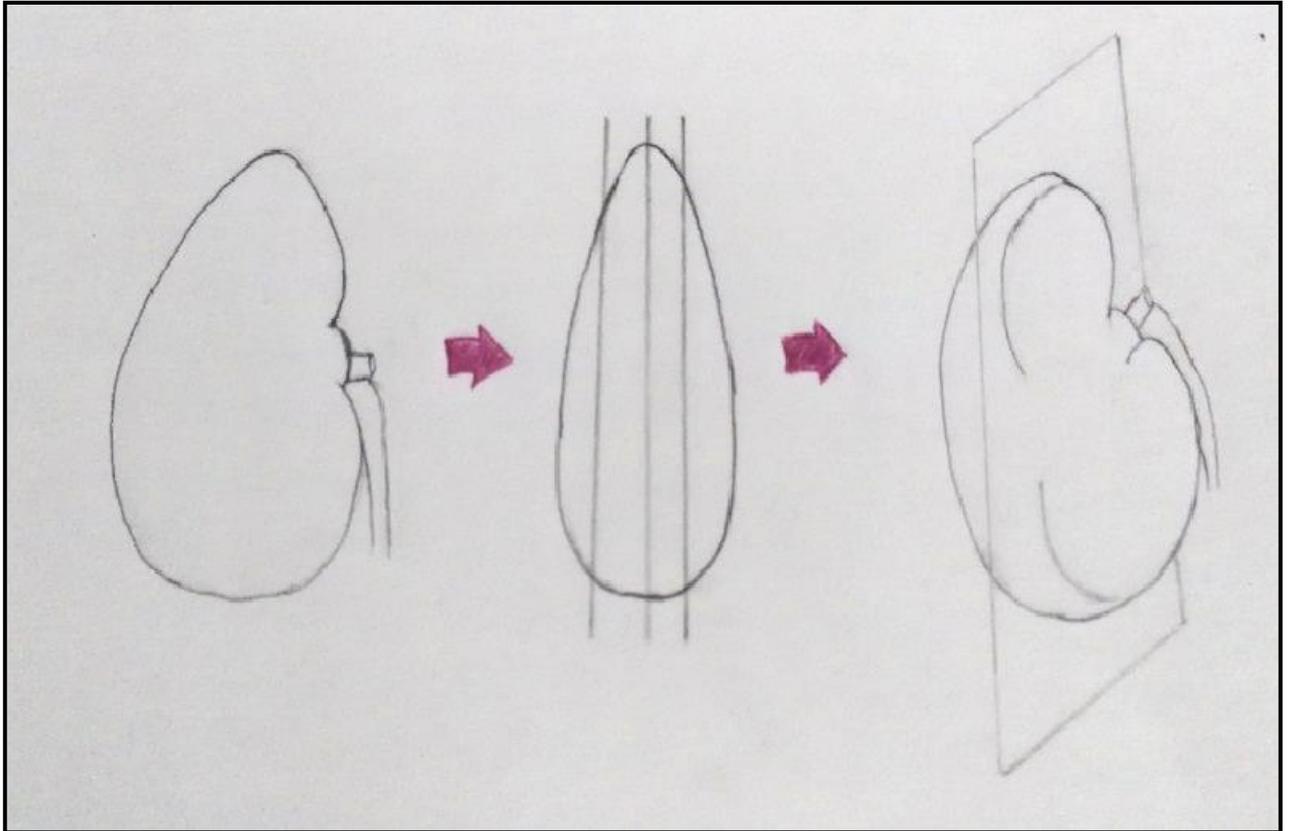


Figura13. Patrón del riñón con corte longitudinal.

Fuente: Elaboración propia, 2017.

ANEXO 8

Figura 14. Observación de las láminas histológicas utilizando un microscopio.

Fuente: Elaboración propia, 2016.