



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

**TESIS**

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

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO**

**ROSARIO DEL PILAR LUJAN PALOMINO  
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

**LIMA-PERÚ**

**2017**

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Tortuga taricaya ( <i>Podocnemis unifilis</i> )	3
2.1.1. Generalidades de las tortugas	3
2.1.2. Taxonomía	3
2.1.3. Morfología	4
2.1.4. Distribución Geográfica	5
2.1.5. Hábitat	5
2.1.6. Comportamiento	5
2.1.7. Alimentación	6
2.1.8. Estado de conservación	6
2.1 Descripción histológica de la tráquea en reptiles	7
2.2.1 Generalidades	7
2.2.2 Ubicación anatómica y descripción macroscópica	7
2.2.3 Descripción microscópica	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1 Espacio y tiempo	10
3.2 Población y muestra	10

3.3	Diseño de la investigación	11
3.4	Equipos y procedimientos	11
3.4.1	Equipos	11
3.4.2	Procedimientos	11
3.5	Diseño estadístico	16
IV. RESULTADOS		17
V. DISCUSIÓN		21
VI. CONCLUSIONES		26
VII. RECOMENDACIONES		27
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		28
ANEXOS		31

## DEDICATORIA

- Este presente trabajo se lo dedico a mis padres por el apoyo constante en todo momento, por el cariño y amor brindado, porque este fue un arduo camino lleno de dificultades y algunos obstáculos pero a pesar de ello ahora estoy por culminar esta etapa y espero que se sientan orgullosos de mi.
- A mis hermanas Verónica y Vanessa por la ayuda brindada, en especial a Vanessa por apoyarme en mis estudios en la universidad por demostrarme que se puede seguir adelante, a mi hermano José porque espero tenga en mi un ejemplo y sepa salir adelante.
- A mis abuelitos que desde el cielo me cuidan y bendicen, y a mi abuelita Juanita que aun me acompaña y espero se sienta orgullosa de mi.
- A Luis Ángel por su constante apoyo durante y fuera de la universidad, por motivarme a seguir adelante, por ser un ejemplo para mí a seguir adelante y por su gran amor que me motiva cada día.
- A mi tutora Mg. Nancy Carlos Erazo por su ayuda incondicional, su constante apoyo y seguimiento hacia mi persona, por su asesorías y su trabajo constante en la elaboración de este trabajo y a la Doctora Lyana Quispe por su ayuda en todo el proceso de investigación, por el tiempo brindado y la orientación constante.

## AGRADECIMIENTO

- A todos los Médicos Veterinarios que me apoyaron en todo este proceso, por las enseñanzas y conocimientos brindados en toda mi carrera universitaria en especial a mi Tutora Mg.Nancy Carlos Erazo con la cual estoy sumamente agradecida por toda la ayuda y paciencia brindada todo este tiempo.
- A toda mi familia porque sin ellos no estaría donde estoy y no sería la persona que soy ahora. Les agradezco por todo el amor y apoyo brindado
- A Luis por enseñarme tantas cosas tanto en la carrera profesional como en la vida diaria y demostrarte que todo se puede con esfuerzo, dedicación y ser un ejemplo a seguir y por su amor, cariño, comprensión y apoyo.
- Al Centro de Conservación “Reserva Ecológica Taricaya” y el Blg. Raúl Bello, por brindar las facilidades para realizar este estudio en favor de la conservación de la tortuga taricaya.

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo realizar la descripción histológica de la tráquea de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) de 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 este reptil, tomando los animales que han fallecido por causas naturales. Se contó con una muestra de 20 animales fueron conservados en formol al 10% y enviados a la ciudad de Lima. En el laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas se realizó la necropsia de los individuos, para ubicar y diseccionar la tráquea. Posteriormente se elaboraron las láminas histológicas con la coloración de Hematoxilina y Eosina y Van Giesson, para luego realizar la observación y descripción de la lámina en el microscopio. Se realiza la primera descripción histológica de la tráquea de tortuga taricaya, observando cuatro capas: la mucosa, sub mucosa, capa media y pericondrio. En la mucosa se observaron cilios y un epitelio columnar pseudoestratificado; la submucosa compuesto por fibras colágenas y células de fibroblastos; en la capa media se encuentra el cartílago hialino, con los condroblastos y los condrocitos; y el pericondrio formado por el tejido conectivo denso. La descripción histológica es similar a otras especies de quelonios, observándose algunas diferencias como la ausencia de la capa muscular.

**PALABRAS CLAVE:** histología, tortuga taricaya, tráquea, reptiles.

## ABSTRACT

The present investigation had as objective to carry out the histological description of the trachea of the Yellow-spotted Amazon River (*Podocnemis unifilis*) of a Conservation Center in the department of Madre de Dios. The study will be conducted in the Taricaya Ecological Reserve, which has a program of artificial incubation and release of this reptile, taking the animals that have died due to natural causes. A sample of 20 animals were preserved in 10% formaldehyde and sent to the city of Lima. In the Central laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the Alas Peruanas University, the necropsy of the individuals was performed, to locate and dissect the trachea. Subsequently the histological sheets were prepared with the staining of Hematoxylin and Eosin and Van Giesson, and then the observation and description of the sheet under the microscope. The trachea presented four layers: the mucosa, sub mucosa, middle layer and perichondrium. The first histological description of the trachea of the taricaya tortoise is carried out, observing four layers: the mucosa, sub mucosa, middle layer and adventitia. In the mucosa, cilia and a pseudostratified columnar epithelium were observed; the submucosa composed of collagen fibers and fibroblast cells; In the middle layer is the hyaline cartilage, with chondroblasts and chondrocytes; and the perichondrium formed by loose connective dense. The histological description is similar to other species of chelonians, Observing some differences as the absence of the muscular layer.

KEY WORDS: histology, trachea, reptiles, yellow-spotted Amazon River

## I. INTRODUCCIÓN

La tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) es un quelonio dulceacuícola que se caracteriza por presentar un caparazón convexo y ovalado, sus crías presentan manchas amarillas naranjas sobre la cabeza. Habitan los ríos y cochas de la Amazonia, en donde tiene una gran importancia ecológica y social. Se ve expuesta a una intensa sobreexplotación de tanto de adultos por su carne como de los huevos, además de ser susceptible al tráfico ilegal para ser mantenida como mascota. Esto ha llevado a ser categorizada en estado vulnerable, dirigiendo esfuerzos como el realizado en un Centro de Conservación en la Amazonia peruana donde se colecta los huevos, realiza una incubación artificial para luego liberar las crías a su medio natural para favorecer su población.

Por otro lado, conocer la anatomía e histología de diversos órganos de especies silvestres, permite conocer mejor su fisiología y formas adaptativas que puedan presentar. No se han realizado muchos estudios en busca de conocer de manera detallada la descripción histológica de órganos importantes como la tráquea en reptiles, conociendo que presentan adaptaciones diferentes a los mamíferos, e inclusive entre los quelonios depende del orden taxonómico y tipo de vida acuática o terrestre. Conocer la descripción histológica permitirá contar con un patrón de apoyo referencial para un posible diagnóstico de patologías y así como conocer más sobre su mecanismo respiratorio,

Según la bibliografía consultada, no existe referencia sobre la descripción histológica de la tráquea de tortuga taricaya, por lo cual el objetivo del estudio fue realizar la descripción histológica de la tráquea de la tortuga taricaya (*P. unifilis*) del Centro de Rescate Taricaya. Esta información será relevante para conocer mejor la biología de esta especie en estado

vulnerable y de gran importancia en la Amazonia. Además brindara un aporte importante que dará a conocer a fondo el estudio de las características histológicas de este órgano.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*)

#### 2.1.1. Generalidades de las tortugas

Existen 12 familias y aproximadamente 257 especies de quelonios, la mayoría de ellas reconocidas como especies amenazadas o en peligro por el CITES. Aunque en castellano todos los quelonios reciben el nombre de tortugas, hay que diferenciar los quelonios terrestres de los quelonios de agua dulce y los quelonios marinos (1).

El caparazón es la marca característica diferenciadora de los quelonios; sirve de protección para el animal, y representa un gran obstáculo para el veterinario, que necesita saber lo que pasa dentro de la caja ósea. Esta caja ósea hace a los quelonios más pesados y aparatosos que otros reptiles de una longitud corporal similar, respecto a los cuales también tienen más capacidad para almacenar comida y retener agua. La gran cavidad celómica sirve para contener los voluminosos intestinos necesarios para la digestión de materia vegetal (2).

#### 2.1.2. Taxonomía

Orden : Testudines

Suborden : Pleurodira

Familia : Podocnemididae  
Género : *Podocnemis*  
Especie : *Podocnemis unifilis* (3)

Recibe el nombre común de Terecay, Taricaya, Tracaxá, Tarricayá, Terecayá, Charapa, Capitarí, Anayurí, Charapa pequeña, Tracaja (hembra) y Zé prego (macho) en Brasil (4).

### 2.1.3 Morfología

Es un quelonio de tamaño mediano; la longitud del caparazón de la hembra adulta es de 33 a 48 centímetros y el peso es de 5 a 12 kilos. El macho es más pequeño, alcanzando 37 centímetros de longitud de caparazón y 4.3 kilos de peso. El caparazón es convexo (arqueado) y de forma ovalada, con sólo un ligero ensanchamiento hacia la parte posterior; presenta una cresta dorsal poco prominente, pero evidente sobre los escudos centrales 2 y 3. Sobre la frente hay un surco, que se extiende desde las narices hasta entre los ojos, y en el mentón lleva una bábula central, ocasionalmente 2 bábulas dispuestas muy juntos. El caparazón es de color negruzco y el peto varía -de negruzco a claro amarillo (5) (Anexo 1).

Las crías recién salidas del nido miden de 34 a 44 centímetros de longitud de caparazón y pesan entre 9 y 20 gramos. Presentan una cresta dorsal, que tiene igual prominencia en los escudos centrales 2 y 3. El caparazón es de color pardo o pardo grisáceo, con el borde orlado de amarillo; el peto es gris y la cabeza es negruzca, adornada con manchas de color amarillo encendido, incluyendo una ubicada sobre el hocico (5).

#### 2.1.4 Distribución geográfica

La taricaya habita en el sistema hidrográfico de la amazonia y Orinoquia en Colombia, Venezuela, Brasil, Perú, Ecuador, Bolivia y las Guayanas (Anexo 2). En Colombia se le encuentra en los llanos orientales y en el sistema de ríos de aguas blancas de la Amazonia como el Putumayo, el Guaviare y Guayabero, el Caqueta, el Caguan y el bajo Mirití-Paraná, donde es muy escasa (4). En el Perú, se distribuye en casi toda la región de la selva baja de los departamentos de Loreto, Ucayali, Amazonas, Huánuco y Madre de Dios (3).

#### 2.1.5 Hábitat

Vive en los ríos y cochas de la Amazonía; durante la crecida de las aguas de los ríos también entra en el bosque inundado para alimentarse de los frutos que caen al agua de los árboles. Pasa toda la vida en el agua y sólo salen a la tierra a asolearse y desovar en las orillas. Sin embargo prefiere lugares tranquilos y poco perturbados como las cochas (5, 6).

Habitan principalmente caños secundarios y tributarios de grandes ríos, sin mostrar preferencia marcada por algún tipo de agua. Según los locales, en la estación lluviosa migran hacia los lagos, madre viejas y zonas inundables donde los ejemplares inmaduros permanecen por largos períodos de tiempo. Igualmente se menciona que es muy común observar esta especie en grandes ríos durante el verano cuando se acerca la estación de anidamiento (7).

#### 2.1.6 Comportamiento

En su medio acuático parecen ser de actividad diurna, con picos de actividad a media mañana y en la tarde. Suele asolearse en grupos sobre troncos o piedras en medio del río

y ocasionalmente en la orilla. Fuera del agua es arisca, metiéndose al agua por cualquier disturbio. La distancia de escape es de unos 80 m (8).

#### 2.1.7 Alimentación

Pueden ser herbívoros, omnívoros estrictas, o carnívoros. Muchas estrategias de alimentación que cambian durante las diferentes etapas de la vida. Familiaridad con la historia natural de los animales y con las prácticas de cría de éxito anteriores recomendaciones pueden servir de guía para la alimentación (9).

En general, las tortugas son herbívoros que se alimentan de grandes cantidades de alto contenido de fibra, hierbas bajas en proteínas, hojas y hierbas. Tortugas de agua dulce son principalmente omnívoros, el pescado que consumen, crustáceos, caracoles, hierbas acuáticas, frutos caídos, y muchos otros alimentos. Tortugas marinas son herbívoras u omnívoras, dependiendo de la etapa de vida (9). La frecuencia del alimento depende de la temperatura del ambiente. Los quelonios necesitan de baños de sol regulares para producir vitamina D (10).

#### 2.1.8 Estado de conservación

En épocas pasadas, este quelonio era muy abundante en los ríos y cochas de la región, pero la explotación descontrolada y creciente de esta especie y de sus huevos, particularmente para fines comerciales, ha traído como consecuencia la casi completa desaparición de la charapa de nuestros ríos y cochas. La taricaya también ha llegado a ser muy escasa en muchas áreas donde antes era abundante (3). Es una especie con amplia distribución en las cuencas del Orinoco y del Amazonas, que ha sido aprovechadas desde tiempos inmemoriales por distintos grupos indígenas como fuente de proteína y han jugado un papel importante dentro de su cultura (11).

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 control su comercialización y evitar su incompatibilidad con su conservación. La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) categoriza a este reptil es estado vulnerable. Según el Decreto Supremos N°034- 2004-MINAG, promulgado el 17 de setiembre de 2004, en el territorio peruano se considera a la taricaya como una especie en estado vulnerable (12).

## **2.2 Descripción histológica de la tráquea en reptiles**

### **2.2.1. Generalidades**

El armazón ósea que cubre la laringe está constituido por el hioides, en el que destacan una lámina basal, que se proyecta muy hacia delante, en relación con la lengua, unos cuernos ascendentes y unos cuernos branquiales, dirigidos hacia atrás. Estos últimos están muy sólidamente constituidos en la tortuga (13).

La glotis se localiza en la base de la lengua, y se continúa con la tráquea que es relativamente corta en las tortugas y muy flexible, para poder seguir con el cuello. Está formada por anillos cartilagosos completos, y se bifurca rápidamente en dos bronquios principales, derechos e izquierdos, que penetran en los pulmones. Esta bifurcación tan temprana permite que el animal pueda respirar, incluso cuando el cuello esta replegado. En los quelonios, los pulmones presentan una forma sacular, con muchos septos, se encuentran situados por debajo del caparazón y ocupan una gran extensión (14).

### 2.2.2. Ubicación anatómica y descripción macroscópica

La tráquea es relativamente corta en las tortugas, y muy flexible, para poder seguir los movimientos del cuello. Está formada por anillos cartilagosos completos, y se bifurca rápidamente en dos bronquios principales, derechos e izquierdos, que se encuentran a lo largo del cuello y penetran en los pulmones (13, 14). Esta bifurcación tan temprana permite que el animal pueda respirar, incluso cuando el cuello está replegado (14). Mayor y López describen la tráquea en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*), la cual está formada por un conjunto de cartílagos unidos entre sí por los ligamentos anulares. Los cartílagos traqueales tienen una sección circular completa. La tráquea en la cavidad celómica discurre dorsalmente y termina bifurcándose en dos bronquios principales considerablemente más largos que en mamíferos (Anexo 3 y 4) (6).

### 2.2.3. Descripción microscópica

Existen pocos estudios sobre la descripción histológica de la tráquea en reptiles. Destacando los estudios llevados a cabo en el yacaré overo (*Caiman latirostris*) (15), la tortuga rusa (*Testudo horsfieldii*) (16), la tortuga mora (*Testudo graeca*), tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) (17), que realizan la descripción histológica de la tráquea. Según la bibliografía consultada no se encontró referencias sobre la descripción histológica de la tráquea de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*).

En Brasil se estudiaron individuos del yacaré overo (*Caiman latirostris*) provenientes de un zoológico, para describir la tráquea utilizando microscopía electrónica e inmunohistoquímica. Observando que el epitelio de la tráquea consiste en una capa columnar pseudoestratificada ciliada con células caliciformes, la lámina propia está compuesta por tejido conectivo con fibras reticulares. Las fibras elásticas están intercaladas con haces de colágeno, formando un borde entre la mucosa y la submucosa. La submucosa consta de tejido conectivo similar a lo encontrado en la lámina propia. No se observó la

capa serosa o glándulas mucosas. La característica predominante de la capa media es la presencia de un anillo de cartílago hialino incompleto, en forma de círculo. Un tejido conectivo laxo completa el espacio entre las extremidades de cada anillo de cartílago (Anexo 5) (15).

En Irán se estudiaron 10 individuos adultos de la tortuga rusa (*Testudo horsfieldii*) en busca de realizar un estudio anatomo-histológico de la tráquea que fue diseccionada y teñidos con hematoxilina. Se observó que la tráquea está rodeada de un epitelio pseudoestratificado columnar que consta de células mucosas, basales y ciliadas. Las células basales están localizadas en la porción basal del epitelio y algunas veces hasta el lumen. Estas células están presentes en abundancia y claramente diferenciadas. Las células basales surgen de múltiples divisiones similares a células germinales de la epidermis. Aparentemente, el cambio de células basales hasta el tipo de epitelio definitivo ocurre en estadio intermedio, representando las células intermedias. Se observó que el epitelio mostró variaciones de grosor y estratificación dependiendo del área, especialmente en la parte cartilaginosa epitelial de la laringe hasta el bronquio extrapulmonar (Anexo 6) (16).

En España se estudiaron 6 individuos de la tortuga mora (*Testudo graeca*) y 8 de la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) en busca de realizar una descripción microscópica del epitelio de la tráquea de estos quelonios. Se observó un epitelio columnar pseudoestratificado, con tres tipos de células: basal, ciliadas y mucosas. Las células ciliadas muestran un citoplasma claro con mitocondrias en la porción apical. Los cuerpos basales y cilios estuvieron presentes, se observó microvellosidades más frecuentes cerca a los “complejos de unión” (Anexo 7 y 8) (17).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Espacio y tiempo

El estudio se llevara a bajo el programa de conservación de la tortuga taricaya del Centro de Conservación “Reserva Ecológica Taricaya”, la cual se encuentra en la margen derecha del río Madre de Dios en la zona de amortiguamiento de la parte norte de la Reserva Nacional Tambopata, provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios.

La fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas. Las tortugas fueron colectadas durante el mes de diciembre de 2015 y enero de 2016.

#### 3.2. Población y muestra

La población de estudio son aquellas tortugas pertenecientes al “Programa de incubación artificial de la tortuga taricaya (*P. unifilis*)” que han eclosionado y muerto por causas naturales hasta después de 2 semanas de edad, dentro del periodo de estabulación pre-liberación. Debido a esto el muestreo será no probabilístico por conveniencia, contando con una muestra de 20 individuos. 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 1m<sup>2</sup> con 0.3m<sup>3</sup> 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**

El diseño de esta investigación es de tipo no experimental descriptiva. Se inició con la aprobación del proyecto por parte de las autoridades respectivas, realizando la necropsia de los animales para coleccionar las muestras (tráquea) y elaboro las láminas histológicas para realizar la descripción respectiva.

### **3.4. Equipos y procedimientos**

#### 3.4.1. Equipos

##### a) Muestra biológica o unidad de análisis

- Tráquea

##### b) Sujeto de estudio

- Tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*)

##### c) Material de campo

- Mandil, guantes de látex, mascarilla 3M, bandejas, formol 10%, frascos boca ancha y vestimenta de trabajo.

##### d) Material de necropsia

- Equipo de disección (pinzas de relojero, tijera pequeña, mango de bisturí), hoja de bisturí, guantes de látex, mascarilla 3M, hoja de necropsia, bandejas, frascos para muestra, formol 10% y plumón indeleble.

e) Material de laboratorio

- Aceite de inmersión, microscopio óptico (Modelo Leica DM759) con cámara incorporada (Modelo Leica ICC50 HD), estereoscopio (Modelo Leica Zoom 2000) y placas petri de vidrio.

f) Material de escritorio

- Cuaderno, lápiz, lapicero, borrador, plumón indeleble y cinta masking tape.

g) Material de equipos electrónicos

- Cámara fotográfica y laptop.
- Programa "Leica Application Suite" v. 4.1.0 Leica Microsystems® 2003-2012.

h) Servicios

- Biblioteca, internet, transporte, impresión y fotocopias

i) Recursos humanos

- Investigador y asesor.

### 3.4.2 Procedimiento

a) Autorización y permisos

Este proyecto se dio con la previa aprobación del comité encargado de proyectos de tesis de la Facultad de Medicina Veterinaria de la universidad Alas Peruanas. Se contó con el permiso para captura y colecta de especies de fauna silvestres, brindada por el Ministerio de Agricultura (MINAGRI) con la Resolución Directoral N°271-2014-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS (Anexo 15).

b) Conservación y envío de la muestra

- Los individuos que hayan muerto por causas aparentemente naturales fueron de aproximadamente de 2 semanas de vida, fueron colocados en frascos con formol al 10% para su conservación durante 24 horas. Es importante mencionar esto ya que entre las 24 y 48 horas los cadáveres sufren efectos autolíticos (19).
- Las muestras fueron selladas y enviadas por vía terrestre a la ciudad de Lima.

c) Recepción de las muestras

- Las muestras fueron recepcionadas en el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas.
- Se procedió al realizar el cambio del medio de fijación (Formol al 10%) al medio de conservación con alcohol al 80% para mantener las muestras.

d) Necropsia y colecta de la muestra

En el laboratorio se realizó la necropsia teniendo en cuenta medidas de bioseguridad necesaria como la utilización de guantes de látex descartable, mascarilla y mandil o chaqueta.

- Encima de una bandeja con un campo descartable se colocará la tortuga en posición dorso ventral.

- Inicialmente se retirara el plastrón, por medio de una incisión en la región donde se fusiona el caparazón y el plastrón, que es la región ventral del animal. El plastrón en los quelonios acuáticos es delgado a diferencia de los quelonios terrestres que presentan el plastrón más grueso.
- Una vez hecha la incisión el plastrón debe ser plegado y retirado, el siguiente paso está en el acto de la incisión y doblar la musculatura pectoral, y por lo tanto el acceso a la cavidad celómica. Para facilitar el acceso se debe desarticular los miembros anteriores y posteriores.
- Expuesto los órganos, se removerá los restos de vitelo y órganos gastrointestinales para exponer la zona torácica (Anexo 9).
- Se coloca la tortuga en una placa Petri y se llevará al estereoscopio.
- Observando a través del estereoscopio se identificará la tráquea, la cual tiene una medida de 2.5 cm aproximadamente desde el nivel caudal debajo de la lengua hasta el término de la bifurcación.
- Para realizar el examen histopatológico se debe coleccionar fragmentos de la tráquea realizando un corte no máximo de 2cm, de preferencia tejido no lesionado.
- Este fragmento será recolectado con la ayuda de un bisturí o cuchillo con mucho cuidado, realizando un corte transversal (Anexo 14).
- Posteriormente este fragmento será recolectado para muestras de hasta 1 cm por el laboratorio para su procesamiento (Anexo 10).
- Inmediatamente después de la colecta de fragmentos, deberán ser fijados en un frasco con alcohol al 80%, el volumen del conservante debe ser mayor al volumen del material colectado.

e) Elaboración de la lámina

Las muestras fueron enviadas a un laboratorio Privado para la elaboración de las láminas histológicas, utilizando la tinción Hematoxilina y eosina y Van Giesson. La tinción Hematoxilina y eosina permite ver tejidos musculares, diferenciar núcleos y células, y en

Van Giesson que se utiliza para la diferenciación de colágeno y otros tejidos conectivos (Anexo13). Se realizaron las siguientes etapas:

- Fijación: se coloca la muestra en un medio fijador (formol) para que mantenga la misma estructura que en el organismo vivo.
- Inclusión: se incluye la muestra en parafina, consiguiendo una pieza dura que se pueda cortar con el micrótomo. Antes de la inclusión la muestra debe ser deshidratada introduciéndola en soluciones de alcohol cada vez más concentrado.
- Corte: con un micrótomo para que el corte sea muy fino y translúcido, generalmente de 5 a 8 micrómetros (5m) de grosor.
- Tinción: en este caso se utilizara hematoxilina-eosina.
- Deshidratación: Alcoholes decrecientes en agua, para deshidratar la preparación, 30 segundos en cada alcohol (20).

Para la tinción de Van Gieson los cortes desparafinados, fijados en formalina o alcohol se llevan a:

- Hematoxilina ferrica de Weigert por 5 a 10 minutos
- Luego se lava con agua destilada
- Se sumerge en CIH alcohol por 3 segundos
- Se lava nuevamente en agua destilada
- Luego por 15 minutos se lava en agua corriente
- Nuevamente se lava en agua destilada
- Posteriormente se mezcla van gieson durante 30 segundos
- Lavar en agua destilada
- Finalmente serio decreciente en alcoholes (21).

f) Observación al microscopio

Las láminas se observaron al microscopio a 100x con aceite de inmersión. Se realizó búsqueda de estructuras características de la tráquea, como el epitelio columnar pseudoestratificado en la tráquea, tejido conectivo laxo, pericondrio, el cartílago hialino y los cilios (Anexo 12).

### **3.5 Diseño estadístico**

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

#### IV. RESULTADOS

Se realizó la descripción de la tráquea de 20 individuos de la tortuga taricaya (*P. unifilis*) logrando identificar las estructuras presentes en las 4 capas: la mucosa, sub mucosa, capa media y pericondrio (Fig. 1).

La primera capa del tejido traqueal es la mucosa, formada por los cilios que son microvellosidades, debajo de esta se encuentran el epitelio columnar pseudoestratificado cilíndrico ciliado (ECPECC) formado por células caliciformes y cilíndricas (Fig. 2).

La submucosa que viene hacer la segunda capa está formada por el tejido conectivo laxo el cual se encuentra entre el ECPECC y el cartílago hialino (CH), este tejido conectivo se encuentra formado por fibras colágenas y células de fibroblastos (Fig. 2).

En la capa media se encuentra el cartílago hialino, identificándose dos tipos de células: los condroblastos (células alargadas) y los condrocitos (células ovaladas).

Por último, la capa del pericondrio está formada por el tejido conectivo denso, que se caracteriza por ser un tejido avascular (Fig. 3).

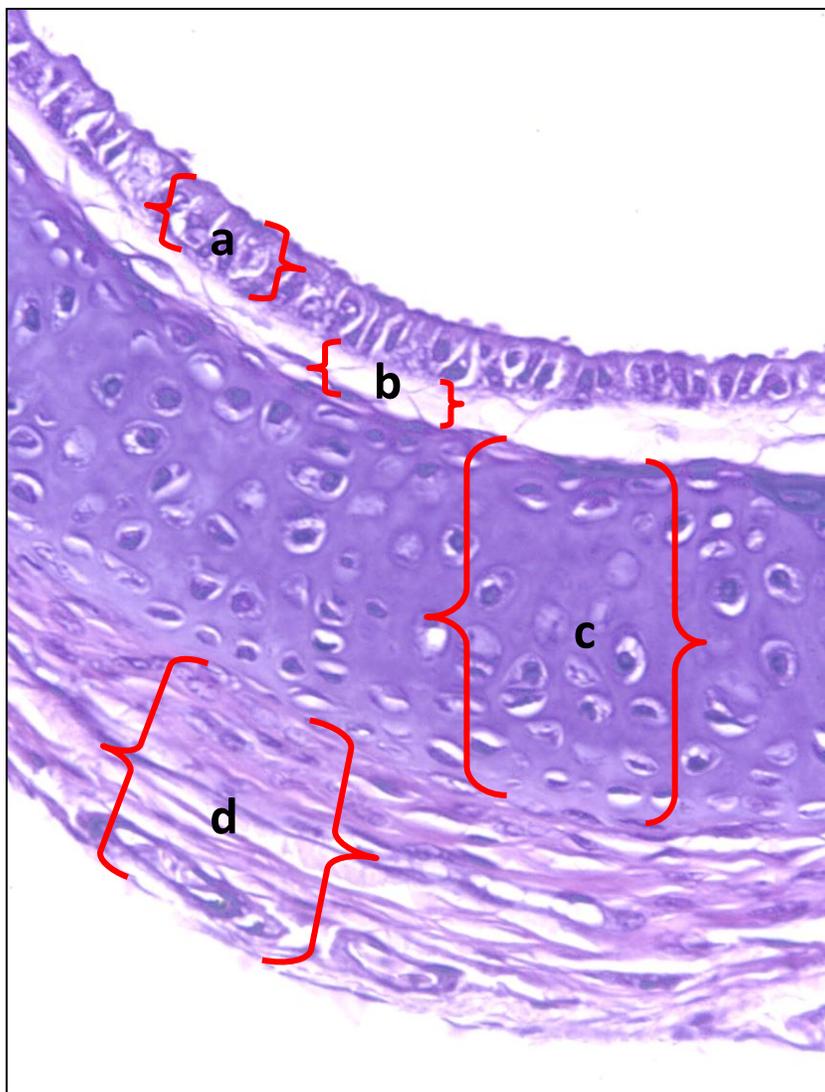


Fig. 1. Microfotografía de la tráquea de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) (Hematoxilina y Eosina a 400X). Se observan las cuatro capas: a) mucosa, b) submucosa, c) capa media y d) pericondrio.

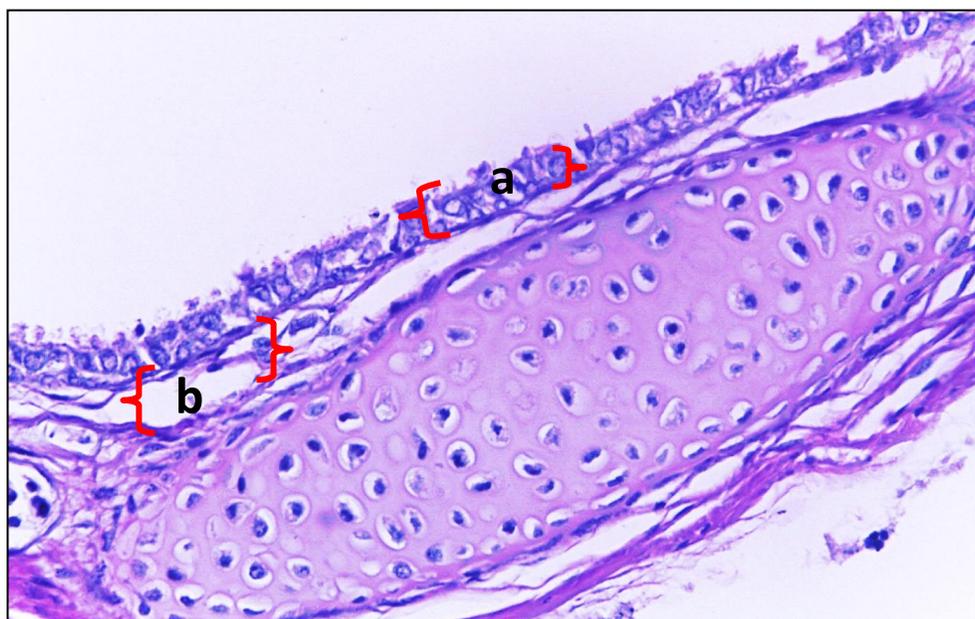


Fig. 2. Microfotografía de la mucosa (a) y submucosa (b) de la tráquea de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) (Hematoxilina y Eosina a 400X).

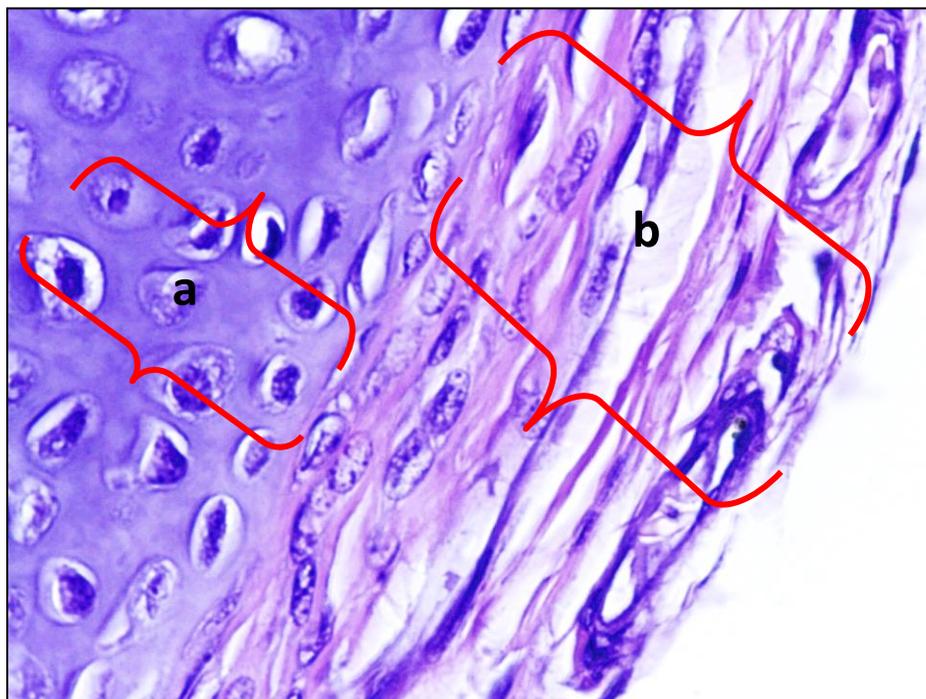


Fig. 3. Microfotografía de la capa media (a) y pericondrio (b) de la tráquea de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) (Hematoxilina y Eosina a 400X).

## V. DISCUSIÓN

Según la bibliografía encontrada, esta es la primera descripción histológica de la tráquea en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*), encontrando reportes para otros quelonios como son: la tortuga rusa (*Testudo horsfieldii*) (16), la tortuga mora (*Testudo graeca*) y tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) (17).

Se observaron 4 capas: la mucosa, sub mucosa, capa media y pericondrio, similar a lo descrito para la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (16) y tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17). Sin embargo, en la tortuga mora (*T. graeca*) se encontraron, además de estas 4 capas, una capa más llamada capa muscular (17). Esta capa muscular tiene una función constrictora (20), esto podría brindarle a *T. graeca* alguna ventaja que pueden estar relacionadas con su hábitat mediterráneo caracterizado con clima muy seco y escasa vegetación (22), a diferencia a lo descrito para *T. horsfieldii* que habita territorios con altibajos climáticos marcados (23). Sin embargo, son necesarios mayores estudios para determinar la función de esta capa muscular.

La primera capa observada en *P. unifilis* fue la mucosa, que conforma el tejido traqueal y está cubierta por los cilios que son microvellosidades que se encuentran en la parte superior, tienen como función la protección contra las partículas diminutas que pueden entrar en la respiración (24). Estos cilios, también han sido observados en la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (16), la tortuga mora (*T. graeca*) y la tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17). En algunos reptiles, las células epiteliales son células de cobertura y

contienen microvellosidades, que pueden estar implicadas en la reabsorción de líquido en la superficie del pulmón (25). Debido a su importante función, los cilios se encuentran en todos los quelonios estudiados, así mismo es común en otros vertebrados como los mamíferos y aves en los que la tráquea se observa también que la mucosa esta bordeada por cilios (26).

En *P. unifilis* se observó, en la primera capa, el epitelio columnar pseudoestratificado cilíndrico ciliado formado por células caliciformes o también llamadas mucosas, las células cilíndricas ciliadas y las basales. Similar a lo descrito en la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (15), la tortuga mora (*T. graeca*) (17) y la tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17). Las células caliciformes o mucosas se encargan de secretar mucina para formar el moco, funcionando como lubricante y protector de agentes patógenos (27); por su parte las células ciliadas o también llamadas criadas se encuentran en la parte superior de la mucosa y tienen como función evitar el ingreso de partículas pequeñas en la respiración; por último, células basales se encuentran en la membrana basal y tienen una función de sostén del epitelio y filtro molecular pasivo (20). En general, la composición del epitelio columnar pseudoestratificado cilíndrico ciliado en quelonios es similar.

Además, en el epitelio columnar pseudoestratificado de *T. graeca* y *T. scripta elegans* se observó mayor cantidad de células basales en las tortugas no hibernantes; sin embargo en la tortugas hibernantes no se observan estas células (17). Los individuos estudiados de *P. unifilis* no están en estivación o habrían disminuido su metabolismo, motivo por el cual se observaron estas células, recomendando realizar estudios en época de clima más adverso en la Amazonia peruana y valorar la posible variación o presencia de estas células basales.

La capa sub mucosa de *P. unifilis* está formada por tejido conectivo laxo, con fibras colágenas y células de fibroblastos. Las fibras colágenas tienen como función la resistencia y soporte al estiramiento y los fibroblastos se encargan de la síntesis del colágeno (20). Similar estructura se observó en la tortuga rusa (*Testudo horsfieldii*) (16), la tortuga mora (*Testudo graeca*) y tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) (17). Similar a la primera capa descrita, la composición esta capa submucosa sería similar en quelonios.

En la capa media de *P. unifilis* se encontró dos tipos de células: los condroblastos (células alargadas) y los condrocitos (células ovaladas), de igual manera a lo descrito en la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (16), así como en la tortuga mora (*T. graeca*) y la tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17). Los condroblastos que se encargan de la síntesis proteica y los condrocitos de mantener la matriz cartilaginosa (20). Observándose similaridad de estructuras en la capa media de la variedad en los quelonios estudiados previamente.

Además, en la capa media de *P. unifilis* se observa el cartílago hialino formado por varios anillos cartilagosos, de igual manera lo descrito en la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (16), así como en la tortuga mora (*T. graeca*) y tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17). A diferencia a lo descrito en otros vertebrados, como los mamíferos, el cartílago hialino esta presente una membrana cartilaginosa formada por un solo anillo cartilaginoso (17). En los reptiles los anillos cartilagosos se encuentran estrechamente espaciados dentro de las paredes (28), por lo que *P. unifilis* cumple con lo descrito para los demás reptiles.

Igualmente, la presencia de estructuras cartilagosas bien definidas que forman círculos completos en la mayoría de las porciones de la tráquea, que gradualmente se segmentó en su región caudal, indica su importancia en el mantenimiento de la permeabilidad al aire,

esta característica es parecida a la tráquea de mamíferos a excepción de la presencia de anillos completos del cartílago hialino (17).

La última capa de la tráquea de *P. unifilis* fue el pericondrio, que se caracteriza por ser un tejido avascular y flexible. Esta capa también fue observada en la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (16), así como en la tortuga mora (*T. graeca*) y la tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17). En general, la capa del pericondrio tiene una función de soporte y protección (20), variando en menor medida entre los quelonios previamente estudiados. Sin embargo, en la tortuga mora (*Testudo graeca*) se observó una capa muscular (17), la cual no está presente en *P. unifilis* ni las otras especies mencionadas. Esta capa se encuentra entre la capa media y el pericondrio, que como se menciona sobre la capa muscular de la submucosa, esto podría brindarle a *T. graeca* alguna ventaja que pueden estar relacionadas con su hábitat mediterráneo.

La capa muscular observada en *T. graeca* se caracteriza por tener células musculares lisas, las que ayudarían en la deglución de alimentos ya que tienen una función constrictora (20). Esta diferencia, al parecer podría estar dada por el tipo de alimentación que tiene *T. graeca* ya que es una tortuga de tierra, lo cual daría una ventaja adaptativa a *T. graeca*, pudiendo ser particularmente útil ya que esta especie se caracteriza por vivir en hábitats con climas extremos y su capacidad de hibernar y estivar, no observadas en *P. unifilis* la cual no hiberna pero sí estiva ya que son de climas tropicales y no toleran las bajas temperaturas, migrando en épocas de lluvia hacia los lagos y madreveja en donde permanecen tiempos prolongados (25). Esta ausencia de capa muscular también podría deberse al estado de inmadurez de *P. unifilis* ya que las muestras tomadas fueron de individuos cría.

Para la investigación y descripción de la tráquea se utilizaron dos tinciones. Una de ellas fue la tinción de Hematoxilina- Eosina, el cual permite diferenciar las células y sus núcleos,

los diferentes tejidos presentes como tejido conjuntivo, tejido conectivo y fibras colágenas (21), permitiéndonos observar con claridad las características de la tráquea de la *P. unifilis* para poder realizar la descripción. Además, esta tinción es topográfica y permite el estudio de la estructura general de los tejidos (21), comprobado y de utilidad para el estudio de la tráquea en *P. unifilis*. Otros estudios como el realizado en la tortuga mora (*T. graeca*) y la tortuga de orejas rojas (*T. scripta elegans*) (17), utilizaron esta tinción con similares resultados.

Adicionalmente, en este estudio se utilizó la tinción Van Giesson, la cual nos ayuda en la diferenciación del tejido conectivo y de fibras colágenas (21). Esto fue evidenciado en el estudio de la tráquea de *P. unifilis* en donde se pudo distinguir con mayor claridad las fibras colágenas y el tejido conectivo. Esta tinción también fue utilizada en la tortuga rusa (*T. horsfieldii*) (16) observando las mismas ventajas que este estudio. La tinción Van Giesson podría ser complementaria a la de Hematoxilina-Eosina, para describir de manera más detallada las estructuras mencionadas. Sin embargo, la tinción de Hematoxilina-Eosina nos permitió apreciar todo el tejido traqueal, a diferencia de la Tinción de Van Giesson que no nos muestra las características en su totalidad del tejido.

## VI. CONCLUSIONES

- Se realiza la primera descripción histológica de la tráquea de tortuga taricaya (*P. unifilis*), observando cuatro capas: la mucosa, sub mucosa, capa media y pericondrio.
- En la mucosa se observaron cilios y un epitelio columnar pseudoestratificado; la submucosa compuesto por fibras colágenas y células de fibroblastos; en la capa media se encuentra el cartílago hialino, con los condroblastos y los condrocitos; y la pericondrio formada por el tejido conectivo denso.
- La descripción histológica es similar a otras especies de quelonios, observándose algunas diferencias como la ausencia de capa muscular.

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios sobre la descripción microscópica de diferentes órganos de *P. unifilis*, con el fin de conocer mejor a la especie y fomentar su conservación.
- Utilizar la tinción de Hematoxilina-Eosina para la descripción del tejido traqueal *P. unifilis*, ya que permite el estudio microscópico de todo el órgano.
- Evaluar e investigar las diferencias histológicas que podrían presentarse en especies adultas de *P. unifilis*, como lo observado sobre la capa muscular en otros quelonios.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. McArthur S, Wilkinson R, Barrows M. Tortugas terrestres y acuáticas. En: Meredith A, Redrobe Sh, editores. Manual de Animales Exóticos. Barcelona: Grafos S.A.; 2012. pp. 296- 315.
2. Jackson O. Reptiles (I): Quelonios. En: Beynon P, Cooper J, editores. Manual de animales exóticos. Barcelona: Ediciones S; 1999. pp. 247-270.
3. Dictamen de extracción no perjudicial de las poblaciones de taricaya (*Podocnemis unifilis*) para el cupo de exportación 2014 [base de datos en internet]. Lima: Vásquez P, Gagliardi L; c 2014 [actualizado 21 feb 2014; citado 16 agost 2016]. Disponible en: <http://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/21/2014/02/DENP-Taricayas-2014.pdf>.
4. Rueda J, Carr J, Mittermeier R, et al. Las tortugas y cocodrilianos de los países andinos del Trópico. Bogotá: Panamericana; 2007.
5. Instituto de investigaciones de la amazonia peruana. Un manual para el manejo de quelonios acuáticos en la amazonia Peruana (charapa, taricaya y cupiso) [base de datos en internet]. Iquitos: Soini P; c1999 [actualizado 22 sep 2006, citado 16 ago 2016]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/M004.pdf>.
6. Mayor P, López C, autores. Atlas de anatomía de especies silvestres de la Amazonía Peruana [libro electrónico]. Loreto: [Consultado el día 15 de agosto de 2016]. Disponible en: <http://atlasanatomiaamazonia.uab.cat/taxonomia.asp?especie=17>.
7. Castro A, Merchan M, Garcés M, Cárdenas M, Gómez F. Uso histórico y actual de las tortugas charapa (*Podocnemis expansa*) y terecay (*Podocnemis unifilis*) en la Orinoquia y amazonia [resumen]. Biota Colombiana. 2013;14(1): 45.

8. Juhani O. Utilización de la Fauna silvestre en América Latina. 1ª ed. Italia: FAO; 1993.
9. Bonnie R. Chelonians (Turtles, Tortoises). In: Fowler M, Miller E, editor. Zoo and wild animal medicine. 5a ed. Philadelphi: Elsevier; 2003. p. 48- 52.
10. Hoerner P, Baptistotte C. Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti). In: Cubas Z, Ramos J, Catao J, editors. Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinaria. Sao Paulo: Roca; 2007. p. 86-95.
11. Bermúdez R Ana, Rodríguez H Manuel, Álape S Diana, Morales B Mónica, Solano Clara. Tortugas Charapa y Taricaya (*Podocnemis expansa* y *Podocnemis unifilis*), un Recurso de Conservación Prioritario. En: Bermúdez R Ana, Trujillo F, Solano Clara, Alonso J, Ceballos-Ruiz B. Retos locales y regionales para la conservación de la fauna acuática del sur de la amazonia Colombiana. Bogotá: Legis S.A; 2010. p. 111-127.
12. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Apéndice I, II y III [base de datos internet] Ginebra: Unep; c2015 [actualizado 5 de feb del 2015; citado 16 agosto 2016]. Disponible en: <https://cites.org/sites/default/files/esp/app/2015/S-Appendices-2015-02-15.pdf>.
13. Jepson L. Medicina de animales exóticos. 1ed. Barcelona: Elsevier; 2011.
14. Martín R, Marín P, González J. Atlas de Anatomía de Animales Exóticos. Barcelona: Masson; 2004.
15. Santos c, Abidu M, Teixeira M, Nascimento A, Sales A. Light microscopic and immunohistochemical study of the trachea of the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). Rio de Janeiro: Federal rural university; 17 January 2011. Series de informs scientific: Veterinarni Medicina, 56, 2011 (1): 48–54.
16. Shadkhast M, Shabazkia H, Bigham A, Shariati S, Mahmoudi T. A Histo-anatomical Study of the Trachea of Central Asian Tortoise (*Testudo horsfieldii*) in Iran. Vet Scan. 2010;5(2).
17. Pastor L, Ballesta J, Hernandez F, Perez R, Zuasti A, Ferrer C, autors. A microscopic study of the tracheal epithelium of *Testudo graeca* and *Pseudemys scripta elegans*.

Murcia: School Medicine; 24 September 1986. Series de informes scientific: J. Anat. (1987), 153, pp. 171-183.

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. Universidad nacional autónoma de mexico. Manual de técnicas de necropsia general. Mexico; 2006.
20. Geneser F. Histología. 3a ed. Madrid: Panamericana; 2001.
21. Bermejo J. técnico especialista en Anatomía Patologica del Servicio Gallego de Salud. 2do vol. España: Mac editorial, 2006.
22. The IUCN Red List of Threatened Species. Testudo graeca [base de datos en internet]. Europe: Van D, Corti C, Mellado V, Cheylan M. c 2004 [actualizado en Marzo del 2016; citado el 05 de Marzo del 2017]. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/details/21646/1>.
23. Avanzi M. Las Tortugas Terrestres. 1ª ed. Usa: De Vecchi; 2016.
24. Jacobson R. Cap 1 Overview of Reptile Biology, anatomy, and Histology. In: Elliott R. Jacobson. Infectious Diseases and Pathology of Reptiles. USA: Taylor y Francis, 2007. Pp. 15 – 145.
25. Young B, Lowe J, Stevens A, Heath J, editors. Wheater`s functional histology. 5a ed. Usa: El Sevier; 2006. Pp. 82 -100.
26. Bacha W, Bacha L. Color Atlas of Veterinary Histology. 3a ed. Usa: Willey-Blackwell; 2012.
27. Lorenzo P, Moreno A, LizasoainL, Leza J, Moro M, Portoles A, editores. Capítulo 42: Aparato Respiratorio. En: Moricillo E, Cortijo J, editores. Farmacologia Basica y clínica. 18ª ed. Argentina: Panamerica, 2008. Pp. 717-727.
28. Vitt L, Caldwell. Herpetology an Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 3a ed. Usa: Elsevier; 2009.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1**

Fig.4: Tortuga Taricaya adulta (*Podocnemis unifilis*).

Fuente: Bermudez y col, 2010 (11).



## ANEXO 3

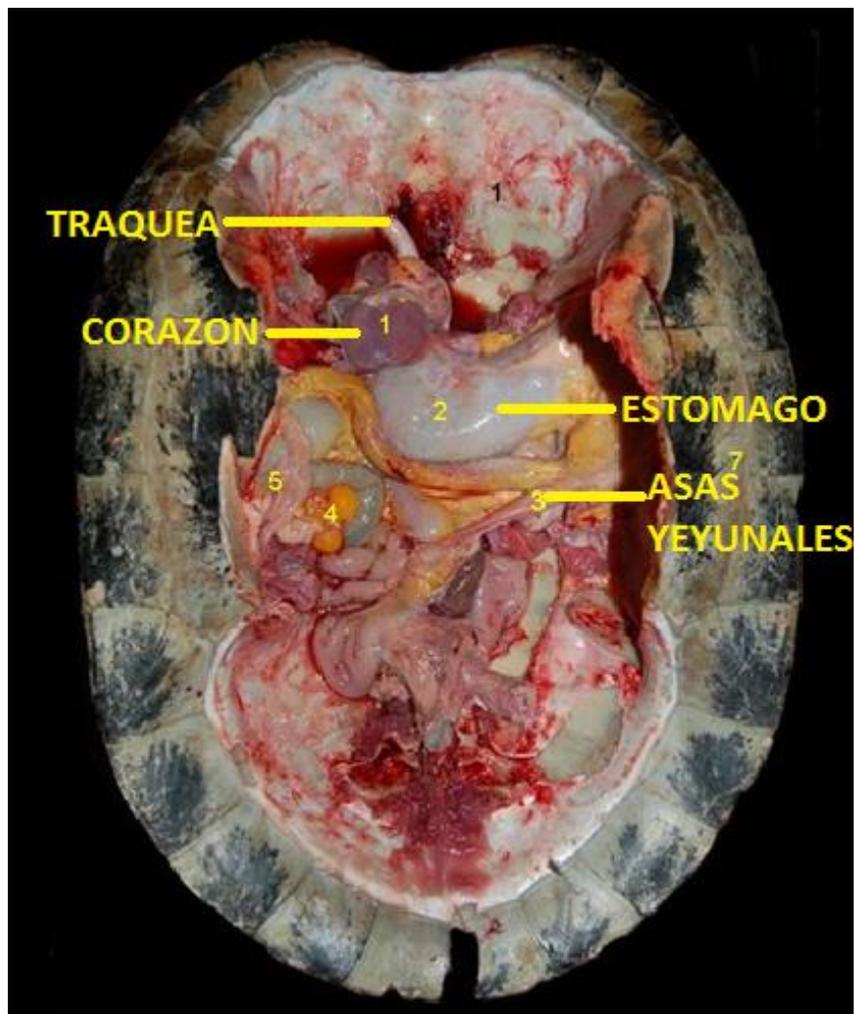


Fig. 6. Anatomía de órganos internos de Tortuga Taricaya.  
Fuente: Mayor P, Lopez C. 2016 (6).

## ANEXO 4

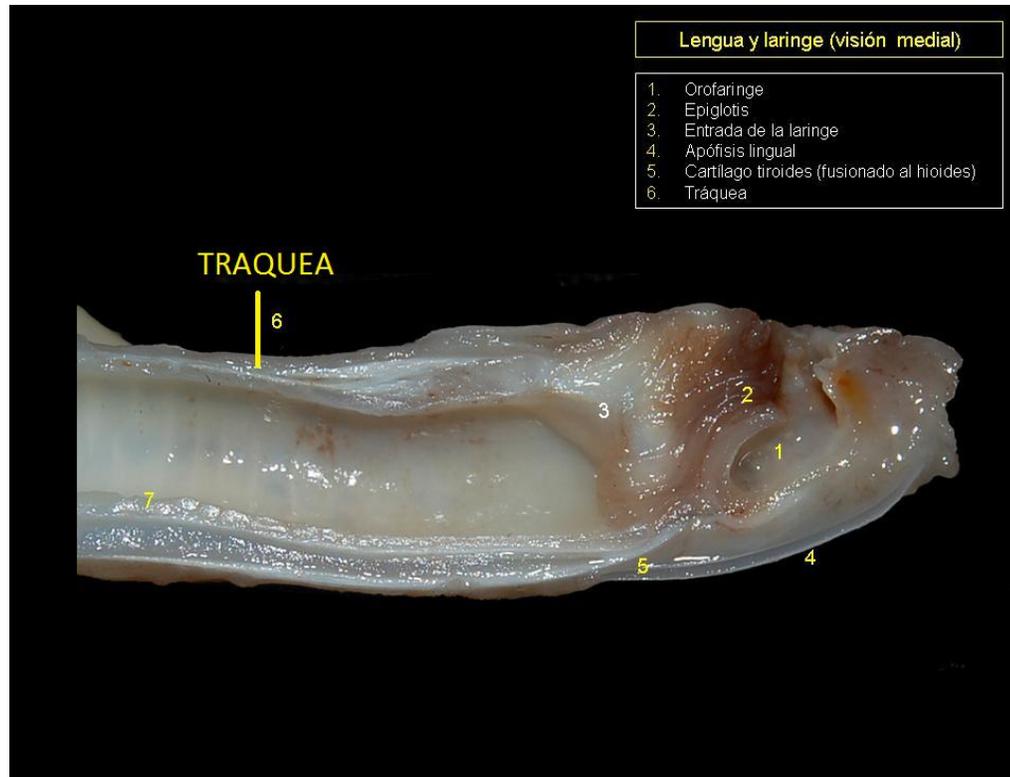


Fig. 7: Tráquea de *Podocnemis unifilis*.

Fuente: Mayor P, Lopez C. 2016 (6).

## ANEXO 5

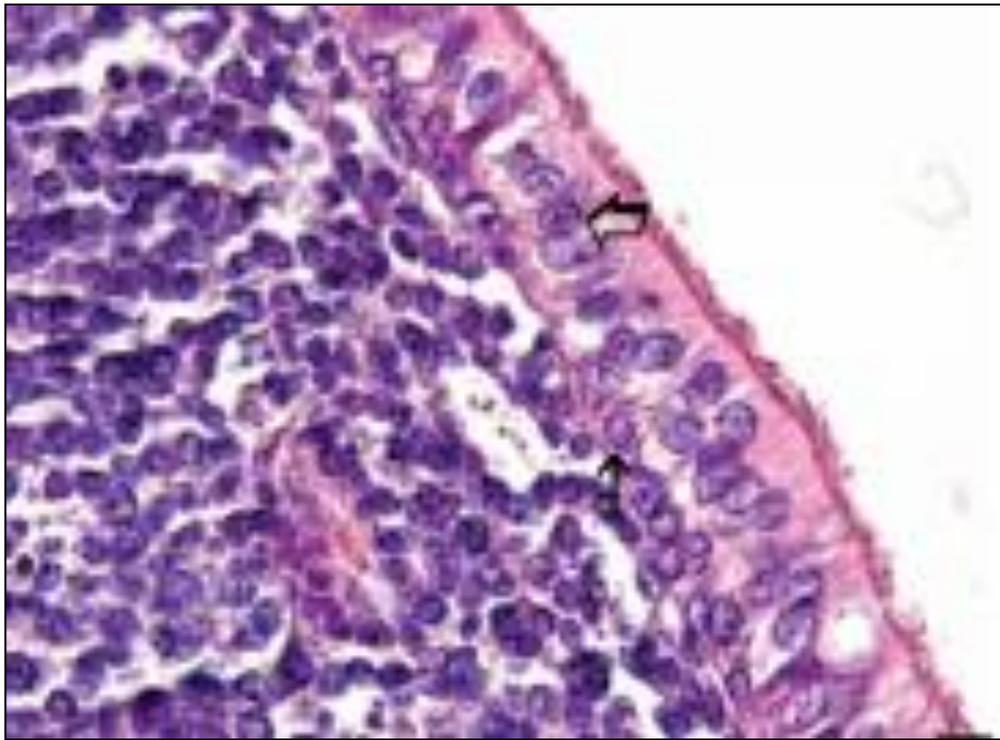


Fig. 8: Vista microscópica de una sección transversal de la tráquea de *Caiman latirotris*.

Fuente: Santos y col, 2011 (15)

## ANEXO 6

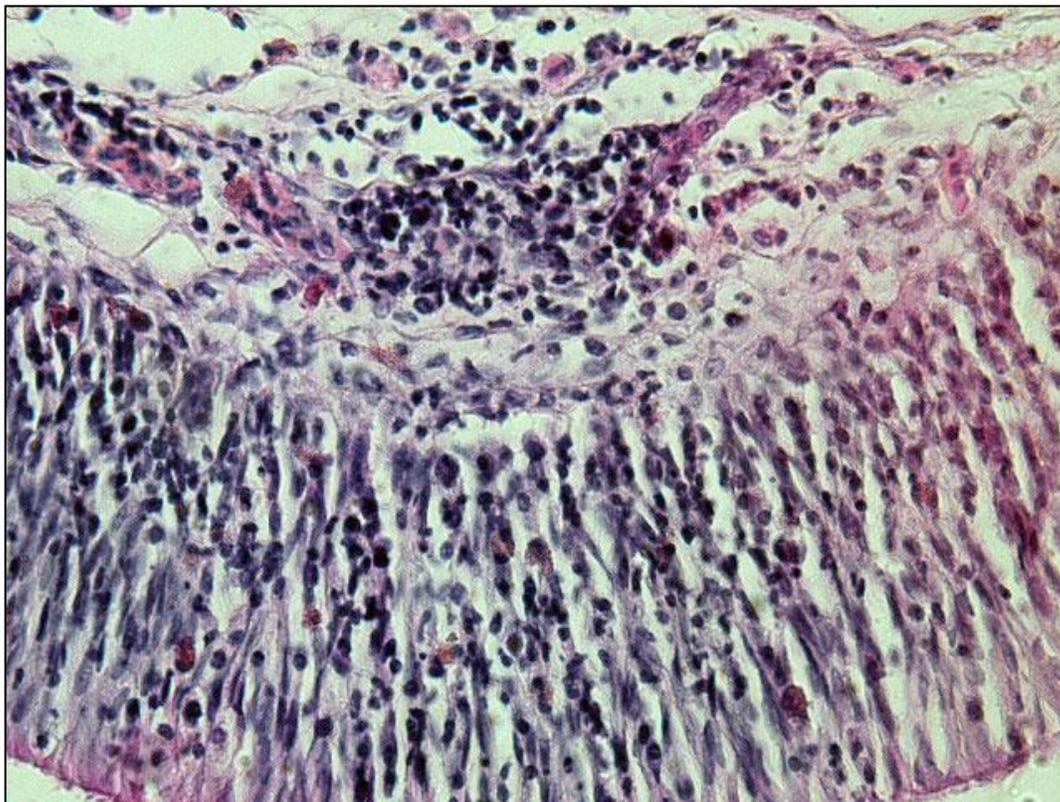


Fig. 9: Vista microscópica de la tráquea de tortuga (*Testudo horsfieldii*)

Fuente: Shadkhast M y col, 2010 (16).

## ANEXO 7

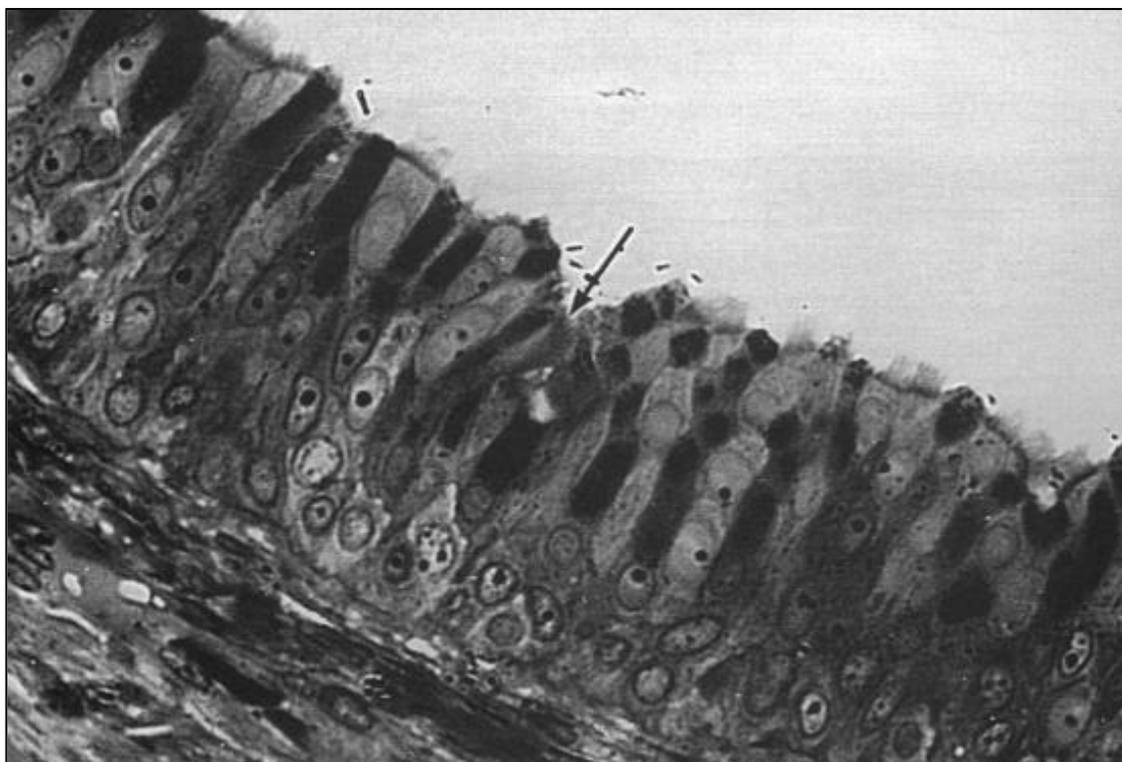


Fig. 10: Vista microscópica de epitelio traqueal de *Testudo graeca*.

Fuente: Pastor y col, 1986 (17)

## ANEXO 8

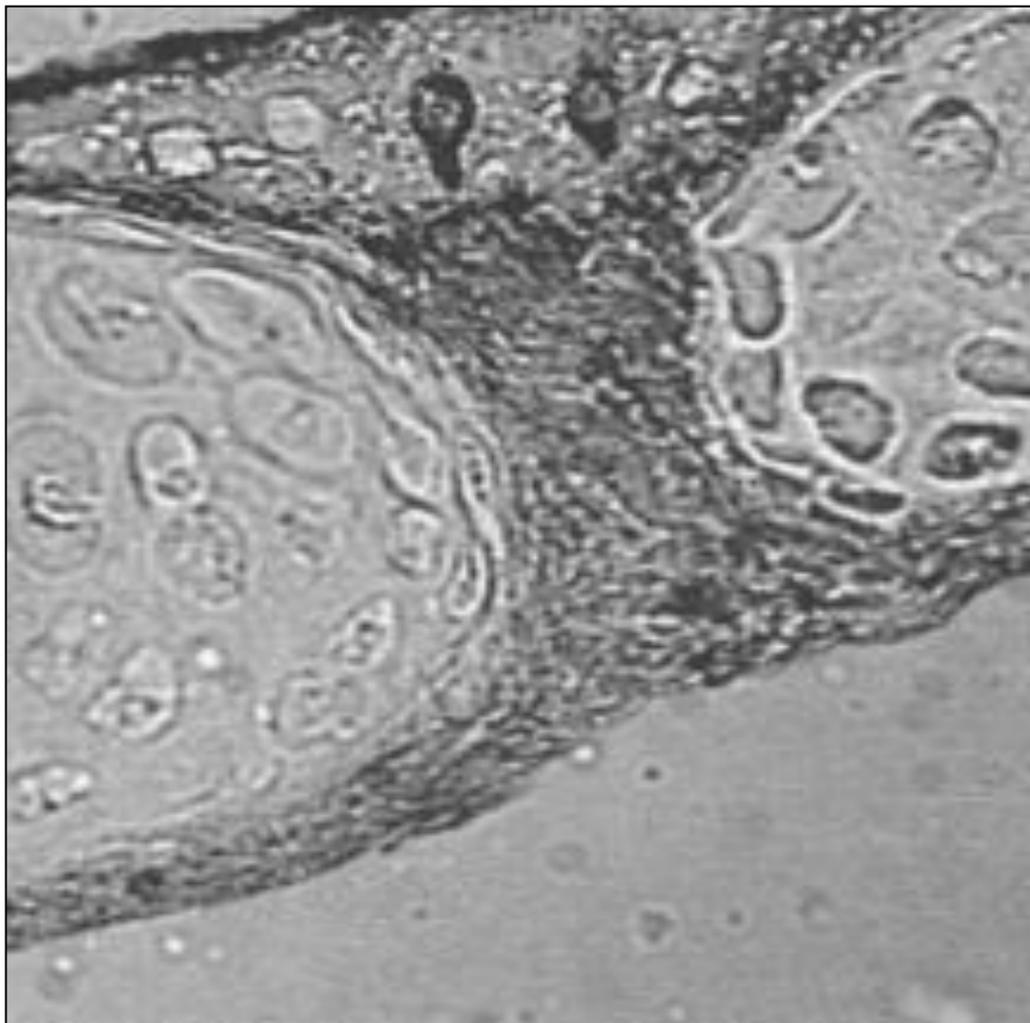


Fig. 11: Vista microscópica del epitelio traqueal *Pseudemys scripta elegans*.

Fuente: Pastor y col, 1986 (17)

## ANEXO 9



Fig. 12: Necropsia de tortuga taricaya *Podocnemis unifilis*.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## ANEXO 10



Fig.13: Disección y medición de la tráquea de *P. unifilis*.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## ANEXO 12

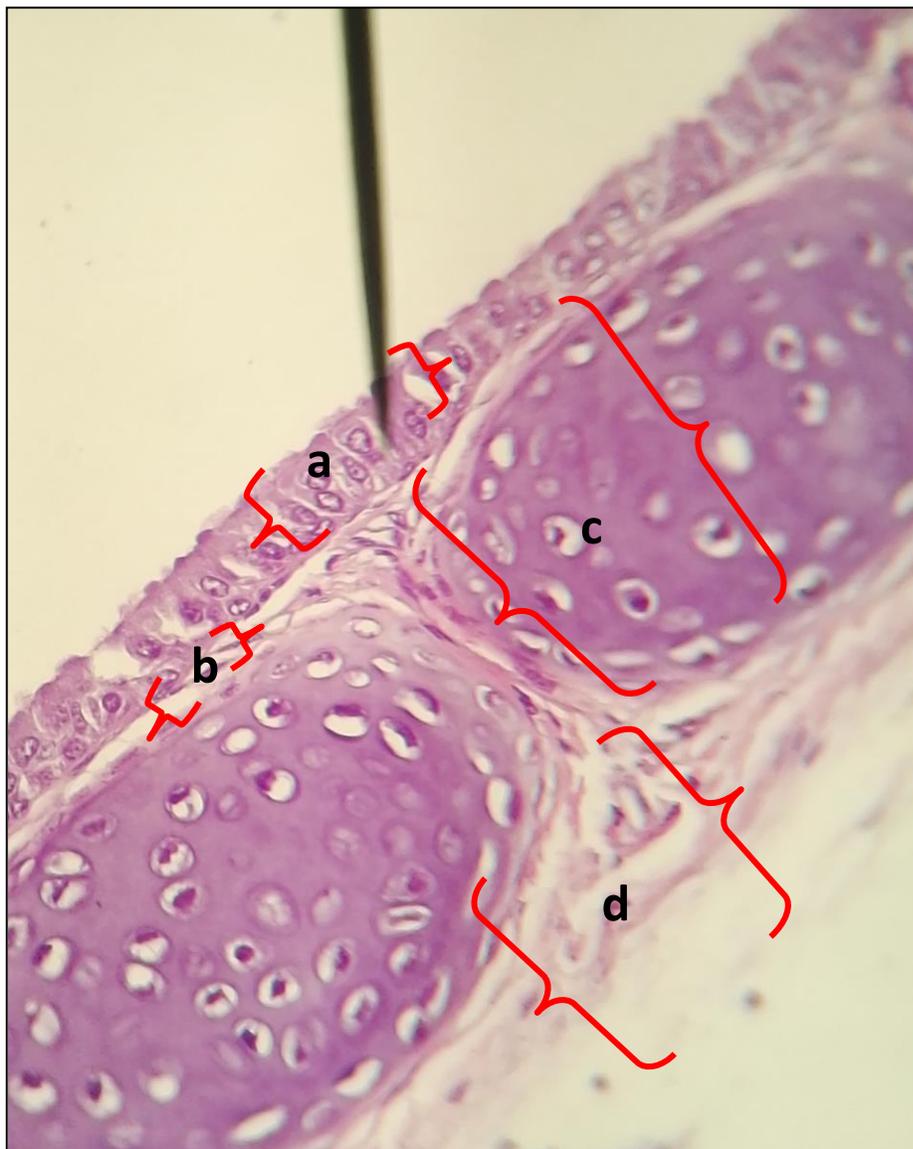


Fig. 15: Microfotografía de la tráquea de *P. unifilis* con la tinción de Hematoxilina-eosina viendo las 4 capas: (a) mucosa, (b) submucosa, (c) capa media y (d) pericondrio.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## ANEXO 13

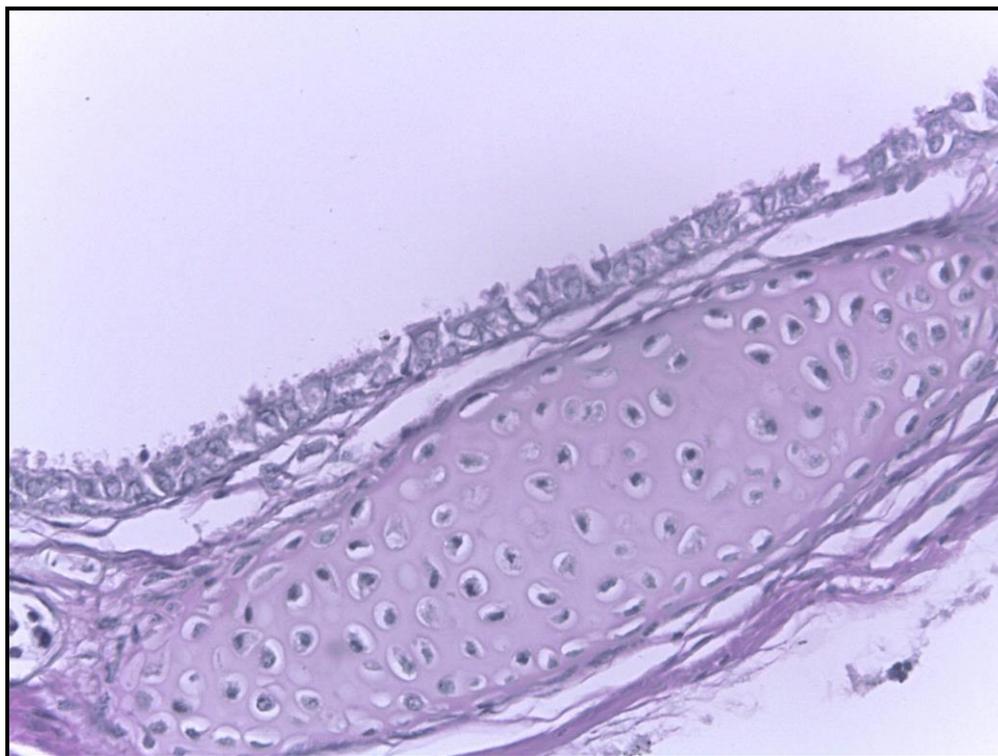


Fig. 16: Microfotografía de la tráquea de *Podocnemis unifilis* a 40x con tinción de Van Gieson.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## ANEXO 14

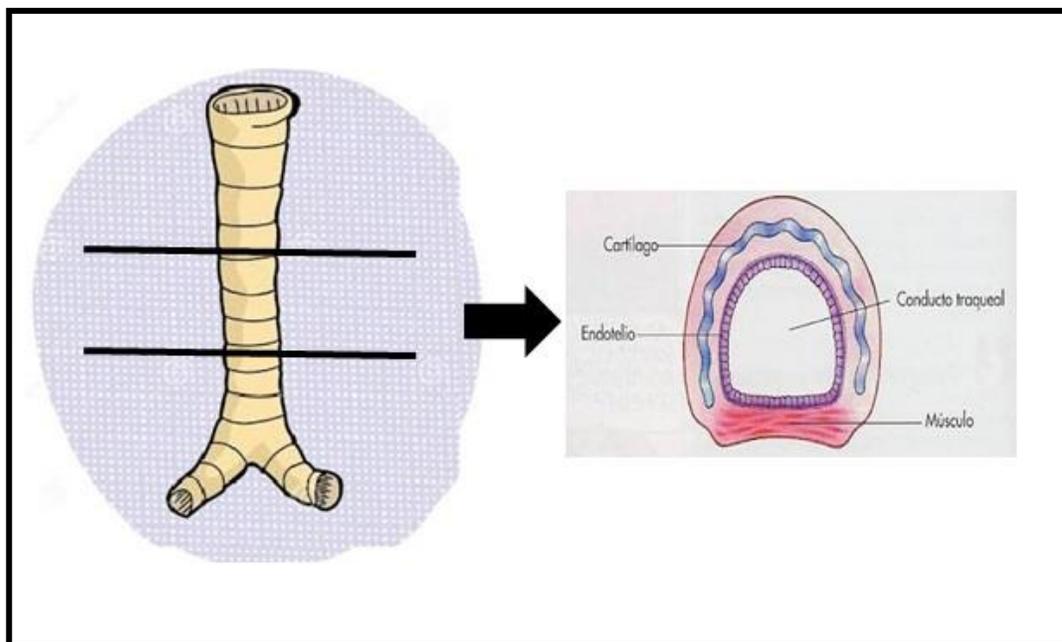


Fig 17. Esquema de toma de muestra y corte transversal en *Podocnemis unifilis*.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

## ANEXO 15

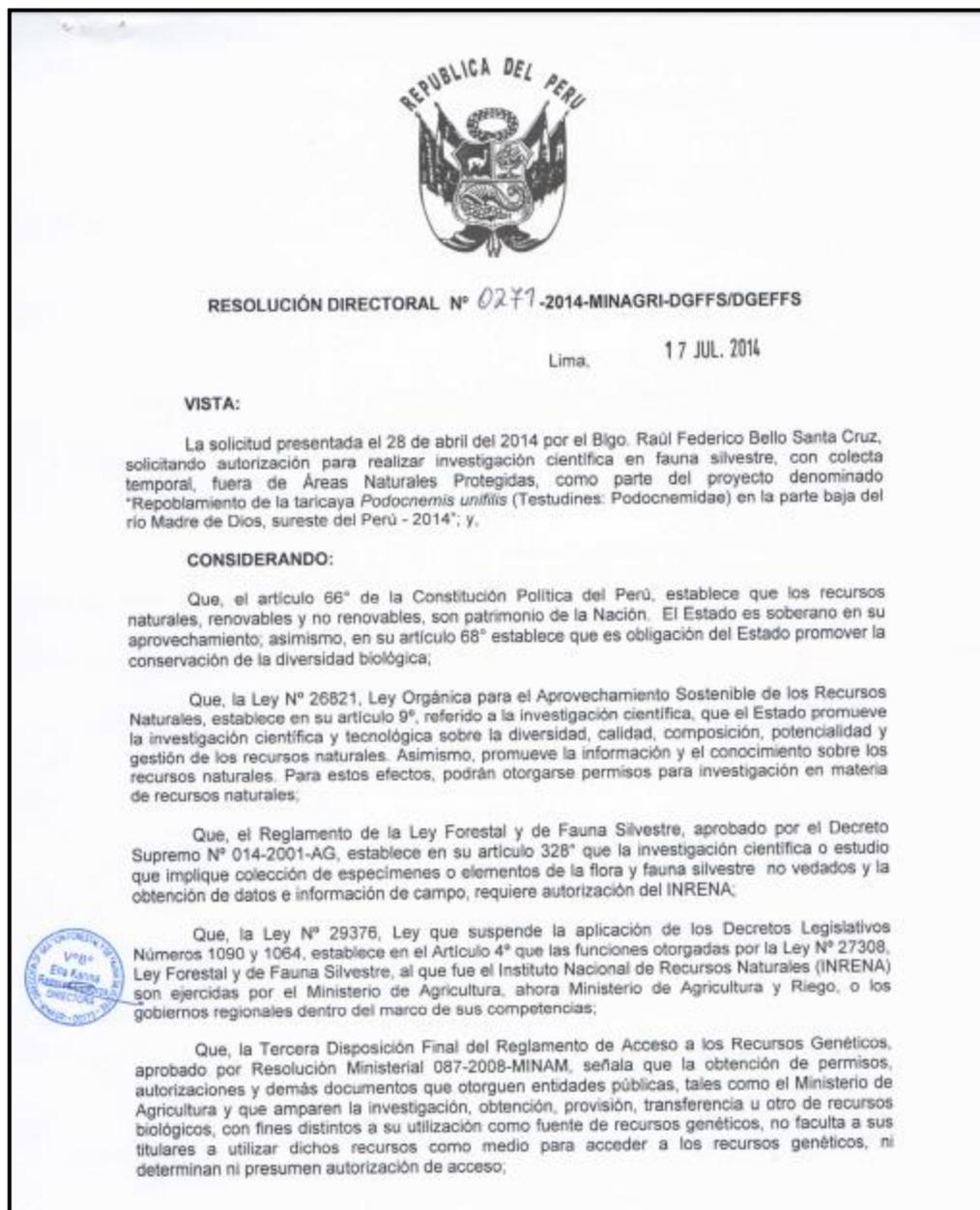


Fig 18. Autorización del Ministerio de Agricultura- INRENA.

Fuente: Ministerio de Agricultura – INRENA, 2014.