A close-up photograph of two pink flamingos preening on a dark, reflective surface. The flamingo in the foreground is the primary focus, with its head tucked down and its long neck curved. Its feathers are a mix of pale pink and white, with some darker spots on its neck. The background is dark and out of focus, showing the reflection of the flamingo and some light spots.

**LA GLÁNDULA UROPIGIA DE
AVES DE DISTINTOS AMBIENTES:
SU ESTRUCTURA Y FUNCIÓN**

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

Universidad Nacional de La Plata

2016

Lic. María Cecilia Chiale

Director: Dr. Diego Montalti

Co-director: Dr. Claudio Barbeito

Dedicatoria y agradecimientos

Este trabajo quiero dedicárselo a mi papá, Pablo A. Chiale, un gran científico pero por sobre todas las cosas una excelente persona. Él fue un ejemplo de trabajo y perseverancia, de pasión por lo que realmente a uno le gusta. Papá, espero que estés orgulloso de mí, sé que cada uno de mis logros siempre te llenaron de felicidad y ojalá llegue a ser al menos una parte de lo grande y genial que fuiste vos, te amo mi científico loco, loco, loco!! Este trabajo lleva tu firma, por tus correcciones y consejos. Al final, tus pensamientos cardiológicos adquirieron plumas y nada pudo haberme hecho más feliz que compartir con vos esta etapa de mi vida. Sé que desde donde sea que estés me vas a ver defender mi tesis y vas a estar a mi lado siempre....te extraño viejito.

Agradezco mucho a mi mamá, Marta L. Bastitta por su gran apoyo y por haber soportado mis mañas y, muchas veces, mis cambios de humor. Por darme las alas para perseguir mis sueños y su aliento ante las adversidades. Mamina, también te amo.

A mis hermanos, Claudio, Marcelo Y Pablo; siempre juntos en las buenas y en las malas. Los quiero mucho!! A mis cuñadas Isabel y Pamela por las largas charlas y su cariño y a todos mis sobrinos, quienes escuchan siempre atentamente lo que les cuento de las aves.

A Luis Pagano, gracias Luigi por tu apoyo incondicional, tus ganas de trabajar y por sobre todo por creer en mí y ayudarme a cumplir mi sueño...trabajar con flamencos!!

Durante estos años conocí gente que me ayudó mucho y me brindaron su amistad; agradezco a Rubén Mario por su paciencia y por enseñarme las herramientas para poder realizar los preparados histológicos de éste trabajo, a la Dra. Alicia Flamini por ayudarme con las técnicas histoquímicas y a la Dra. Patricia Fernández por enseñarme las técnicas de lectinhistoquímica y al Laboratorio de Patología General de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP por permitirme realizar las técnicas de lectin e inmunohistoquímica de este trabajo. A Sandra Fernández y Guillermina Rappi por su apoyo en momentos difíciles y por las oportunidades laborales que me brindaron, a mis amigas Laura Peresan, Maura Baistrocchi y Laura Chornogubsky quienes aguantaron muchas veces nuestros desencuentros. A Mara Loza por su apoyo y por las risas en el laboratorio.

Al Dr. Juan Amat, Investigador de CSIC (Reserva Biológica Doñana, Sevilla, España) por sus invaluable consejos y por su ayuda desinteresada. Al MV Diego Balducci, Director del Jardín Zoológico y Botánico de La Plata y Lic. Gabriela Gorriti por permitirme

estudiar la colonia de *P. chilensis* de dicho establecimiento, a Mariela Frase y colaboradores del zoo quienes amablemente participaron de la captura de los flamencos para la toma de muestras. Al Dr. Horacio Heras y La Lic. Pilar Cadierno por su ayuda en el análisis de lípidos.

A mis directores, Diego Montalti y Claudio Barbeito, gracias por el apoyo que me brindaron durante la realización de mi tesis y por confiar en mi trabajo.

Un agradecimiento muy especial a Silvia Vitale (Capítulo VI) y Luis Pagano (Capítulos I, II, IV, V) quienes me prestaron las fotos que ilustran las portadas de los capítulos de esta tesis.

Claro que no pueden faltar en los agradecimientos aquellos seres que me introdujeron en el extraordinario mundo de la Ornitología, los flamencos. Mis hermosos emplumados, que tantas sonrisas me robaron y tantos sueños me otorgan. Aún queda un largo camino por transitar junto a ustedes.

Cecilia.

“Aquel pájaro fue para mí la criatura que en mayor grado se parecía a un ángel en la tierra”.

Guillermo E. Hudson (sobre los flamencos).

ÍNDICE

Resumen	2
Abstract	3
Capítulo I: Introducción	4
<i>Generalidades</i>	5
<i>Tamaño glandular relativo</i>	9
<i>Aspectos morfológicos e histológicos</i>	11
<i>Composición química de la secreción uropigial</i>	19
<i>Funciones de la glándula uropigia</i>	22
<i>Hipótesis</i>	25
<i>Objetivos</i>	26
Capítulo II: Materiales y Métodos	27
Capítulo III: Resultados	41
<i>Masa glandular relativa y plumas del pincel</i>	41
Capítulo IV: Aspectos generales e histología de la glándula uropigia de aves marinas	
<i>Aspectos generales</i>	61
<i>Pingüinos</i>	62
<i>Petreles de las tormentas</i>	75
<i>Skúas</i>	82
Capítulo V: Histología de la glándula uropigia de aves de cuerpos de agua continentales	
<i>Macá tobiano</i>	94
<i>Flamenco austral</i>	106
<i>Biguá</i>	119
Capítulo VI: Histología de la glándula uropigia de aves terrestres	

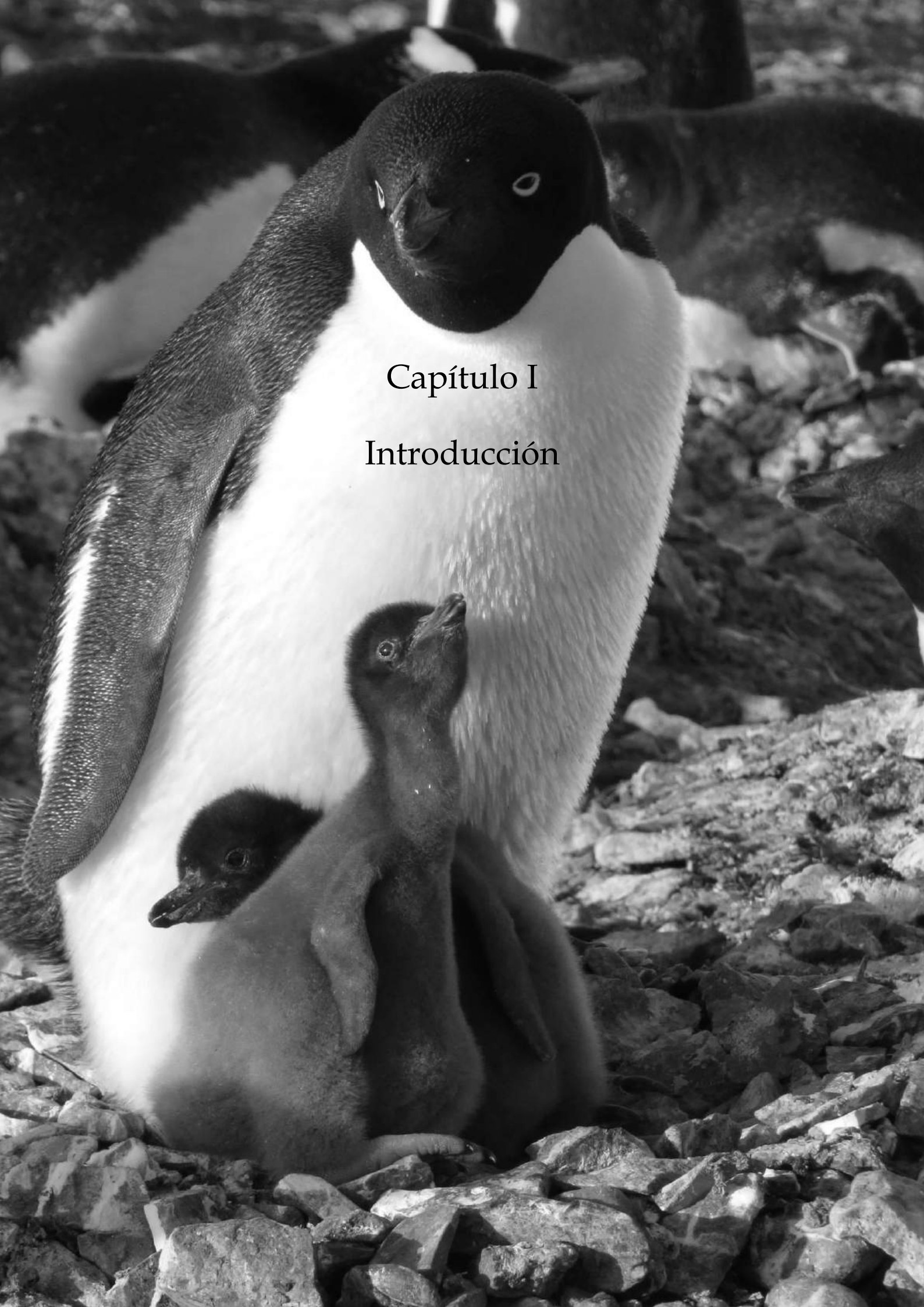
<i>Lechucita de las vizcacheras</i>	130
<i>Carancho</i>	143
<i>Chimango</i>	154
<i>Cotorra común</i>	170
<i>Torcaza</i>	179
Capítulo VII: Composición química de la secreción uropigial	191
Capítulo VII: Discusión y Conclusiones	196
Capítulo IX: Bibliografía citada	209
Apéndice I	222
Apéndice II	223
Apéndice III	224

Resumen

La glándula uropigia de las aves es un órgano sebáceo compacto ubicado dorsalmente sobre las últimas vértebras caudales. Es muy variable en cuanto a su forma y tamaño pero, generalmente, está formada por dos lóbulos y en su extremo caudal posee una papila; en ésta última región se encuentran los poros excretores que suelen ser dos en la mayoría de las aves, pero en algunos casos se observó que éste número puede ser mayor. También es posible encontrar un pincel de plumas rodeando los poros excretores. El tamaño relativo de la glándula uropigia varía considerablemente entre especies; se afirma que las aves acuáticas poseen un tamaño glandular relativo mayor que las aves terrestres. A nivel histológico, la glándula uropigia está compuesta por adenómeros donde se produce la secreción, y cavidades de varios tamaños que cumplen la función de almacenamiento de la secreción uropigial; está rodeada por una cápsula de tejido conectivo denso y el parénquima de la glándula está formado por adenómeros tubulares, el epitelio de los adenómeros es estratificado. La secreción uropigial consiste en una mezcla de fragmentos celulares, láminas córneas y sebo producido por las células secretoras de los adenómeros. La glándula uropigia es una fuente única de producción de monoésteres de cera y otros compuestos lipídicos inusuales y sus funciones incluyen mantenimiento del plumaje, acciones fungicidas y antibacterianas, como órgano productor de feromonas y como cosmético entre otras. El presente trabajo evalúa el tamaño glandular relativo, el desarrollo del pincel de plumas, las características histológicas, histoquímicas y la composición lipídica de la secreción uropigial en aves de distintos ambientes. En las aves acuáticas se encontraron los valores de masas glandulares absolutas más grandes y una notable alometría negativa con respecto al tamaño glandular relativo entre las aves de distintos ambientes. Aquellas aves vinculadas a un ambiente acuático también poseen un mayor tamaño glandular relativo y un pincel de plumas más desarrollado que las aves terrestres. La histología de la glándula uropigia es similar en todas las aves estudiadas (glándula rodeada por una cápsula de tejido conectivo denso, adenómeros tubulares con epitelio estratificado formado por estratos basal, intermedio, secretor y degenerativo). La diferencia más notable es la presencia de una cámara primaria de almacenamiento en aves terrestres y en aquellas especies con menor grado de contacto con el agua (petreles de las tormentas). Las técnicas histoquímicas y lectin-histoquímica reflejan que la composición uropigial posee diferentes compuestos glicosilados. También fue posible determinar que los compuestos predominantes en la composición química de la secreción uropigial son las ceras, tanto en aves acuáticas como en terrestres. El mayor tamaño glandular relativo, la ausencia de cámara primaria y el mayor desarrollo del pincel de plumas en aves acuáticas podría asociarse a un uso diferencial de la glándula ya que es probable que las aves acuáticas requieran un mayor aporte de secreción y una liberación más continuada para mantener el plumaje en condiciones. Los compuestos glicosilados junto con las ceras pueden estar asociados a la función antimicrobiana de la glándula uropigia y están presentes (en mayor o menor medida) tanto en aves acuáticas como terrestres, por lo que esta función sería similar independientemente del ambiente.

Abstract

The uropygial gland of birds is a sebaceous compact organ located dorsally over the last caudal vertebrae. Its shape and size varies notably among species, it has two lobes and a papilla in its caudal end; in this region the excretory ducts are located and the number of these ducts is two in most species but it could be increased in other birds. Surrounding the excretory ducts, there is a feather tuft. The relative gland mass varies considerably between species, aquatic birds have a greater relative gland mass than terrestrial birds. At the histological level, the uropygial gland is composed of tubular adenomers where the secretion is produced and cavities of different size to store the uropygial secretion. The gland is surrounded by a capsule of dense connective tissue and the epithelium of the adenomers is stratified. The uropygial secretion consists of a mixture of cell fragments and sebum produced by the secretory cells of the adenomers. The uropygial gland is a unique source of monoester waxes and other unusual lipidic compounds. The functions of the uropygial secretion are plumage maintenance, antibacterial and antifungal actions, pheromone production and its use as a cosmetic among others. The present study evaluates the relative gland mass, the development of the feather tuft, histologic and histochemical characteristics of the uropygial gland and the chemical composition of the secretion in aquatic and terrestrial birds. Aquatic birds have greater absolute and relative gland masses and also a greater development of the feather tuft than terrestrial birds. Also, there is a notable negative allometry between the relative gland mass and body mass in species of different environments. The histology of the uropygial gland is similar in aquatic and terrestrial birds (the gland is surrounded by a capsule of dense connective tissue, the adenomers are tubule-alveolar and the epithelium of the adenomers is composed by different strata: germinative, intermediate, secretory and degenerative). The most significant difference is the presence of a primary chamber in terrestrial birds and in those species with less contact with water (storm petrels). The histochemical and lectin-histochemical techniques reflect that the uropygial secretion has a variety of glycoconjugates compounds. It was also possible to identify that the principal lipidic compounds of the uropygial secretions are waxes, regardless of the environment. The larger relative gland mass and feather tuft in aquatic birds could be related to a differential use of the uropygial gland since these birds may require a greater contribution of secretion for plumage maintenance purposes. The glycoconjugates along with the uropygial waxes may be related to antimicrobial functions and they are present (to a greater or lesser extent) in both aquatic and terrestrial birds, thus, this function is similar in birds of both environments.



Capítulo I
Introducción

INTRODUCCIÓN

Generalidades

La piel de las aves es muy elástica, generalmente translúcida y mucho más delgada que la piel de los mamíferos; se divide en la epidermis, que es la porción ectodérmica de la piel y la dermis que tiene un origen mesodérmico, excepto la dermis de la región facial que se forma a partir de las crestas neurales (Le Lièvre & Le Douarin 1975, Le Douarin 2012). Carece de glándulas sudoríparas y sebáceas pero actúa como un órgano secretorio en sí mismo debido a la presencia de células lipogénicas. De todos modos, la piel, cuenta con ciertas estructuras especializadas en la síntesis de lípidos: las glándulas de los oídos y la glándula uropigia (Stettenheim 2000). La glándula uropigia (Fig. 1), también conocida como “glándula del aceite” o “preen gland”, es un órgano sebáceo compacto ubicado dorsalmente sobre las últimas vértebras caudales (Elder 1954, Lucas & Stettenheim 1972, Kolattukudy 1981, Jacob & Ziswiler 1982).



Figura 1: Ubicación de la glándula uropigia. Pingüino de Adelia *Pygoscelis adeliae*. La flecha señala la papila y luego se continúa con el pincel de plumas. Foto: L. Pagano.

Las primeras publicaciones sobre la función de la glándula uropigia surgieron durante el siglo XIII, el Emperador Federico II de Hohenstaufen en su tratado sobre cetrería postuló que las aves rapaces esparcían la secreción uropigial en sus garras y que ésta tendría efectos tóxicos que acelerarían la muerte de las presas (Wood & Fyfe 1943). El anatomista Francés, Georges Cuvier, realizó la primera descripción sobre la anatomía interna de ésta glándula (1799-1805). En 1822, Burton estudió el tamaño glandular y la función, en su estudio de la glándula uropigia de *Fregata aquila* (fragata de Ascención), mientras que Audubon (1829) discutió el uso de la secreción uropigial para la lubricación del plumaje. Nitzsch (1840) publicó un trabajo que describe aspectos morfológicos de la glándula uropigia en varios taxa, también discutió la presencia o ausencia de ésta estructura y sus distintas formas en diferentes grupos de aves. En el siglo XX, varios autores proveyeron información sobre la morfología de la glándula uropigia en taxa adicionales (Elder 1954, Lucas & Stettenheim 1972, Jacob & Ziswiler 1982) y además aportaron datos sobre distintos aspectos biológicos de éste órgano. También se realizaron estudios sobre la ontogenia y desarrollo de ésta glándula (Gomot 1958) y sobre la composición química de su secreción (Jacob 1976).

A lo largo de los años se investigaron una gran variedad de especies y se encontraron muchas aves que carecían de glándula uropigia, por ejemplo, algunos miembros de las familias Columbidae (Garrod 1874a, Beddard 1898, Grassé 1950), Psittacidae y Picidae (Johnston 1988). Esta condición varía en cada nivel taxonómico. Johnston (1988) postuló la ausencia de glándula uropigia en: Struthionidae (ausente tanto pichones como adultos), Rheidae (sólo ausente en adultos), Casuariidae (ausente tanto en pichones como individuos adultos), Dromaiidae (sólo ausente en adultos), Mesoenatidae (ausente en las tres especies que conforman la familia), Otidae (ausente en 5 especies examinadas), Columbidae (ausente en 9 géneros, 28 especies), Psittacidae (ausente en 6 géneros, 31 especies), en el género *Podargus* (ausencia en 3 especies analizadas) y Picidae (ausente en 1 género, 4 especies). La ausencia de glándula uropigial en una gran cantidad de especies y taxa llevó a la búsqueda de explicaciones para este fenómeno. Kossman (1871) no pudo establecer una relación entre la ausencia de glándula y el estilo de vida de las aves, mientras que Johnston (1988) sugirió que la glándula uropigia se perdió secundaria e independientemente en varias aves. Algunas aves poseen glándulas uropigias rudimentarias, tal es el caso de las garzas (Ardeidae) y el kagú (Rhynchotidae), en los que esta característica se ve compensada por la

presencia de un tipo particular de pluma, denominado polvo-pluma, que suplementaría el rol de esta glándula en el mantenimiento del plumaje, ya que liberan un producto similar al talco (Wetmore 1920, Hindwood 1933, Sick 1964) formado por células queratinizadas unidas por un material lipóide (Menon & Menon 2000).

La glándula uropigia es muy variable en cuanto a su forma y tamaño pero, generalmente, está formada por dos lóbulos y una papila en su extremo caudal; en ésta última región se encuentran los poros excretores que suelen ser dos (uno por lóbulo) en la mayoría de las aves, pero en algunas aves se observó que éste número puede ser mayor, como por ejemplo en los Procellariiformes y las familias Phalacrocoracidae, Phoenicopteridae, Ciconiidae, algunos Threskiornithidae y Gruidae (Jacob & Ziswiler 1982). También es posible encontrar un pincel de plumas rodeando los poros excretores; se pueden observar tres arreglos diferentes en cuanto a la disposición de éstas estructuras (Jacob & Ziswiler 1982):

1. Rodeando ambos orificios y formando un único pincel.
2. Rodeando cada orificio por separado y formando, por lo tanto, dos pinceles.
3. Formando una simple línea entre los orificios.

El tipo de pluma que forma parte de este pincel se describió como “plumón”, plumón modificado” (Nitzsch 1867, Grassé 1950, Lucas & Stettenheim 1972), “semipluma” (Nitzsch 1840) o “plúmula” (Paris 1913), dependiendo de la presencia o ausencia de raquis. Johnston (1988) propuso una nueva clasificación para las plumas del pincel (basado en la definición de Lucas & Stettenheim 1972); las de Tipo I (Fig. 2) descritas como un plumón (“pluma cuyo raquis es más corto que las barbas más largas”) y las de Tipo II y IIa (Fig. 3) como semiplumas (“plumas cuyo raquis sobrepasa las barbas más largas”). La diferencia entre las plumas de Tipo II y IIa es la distribución de las barbas a lo largo del raquis; la Tipo II posee barbas que surgen a lo largo de toda la extensión del raquis y en la Tipo IIa, la región media del raquis carece de barbas.

TIPO I

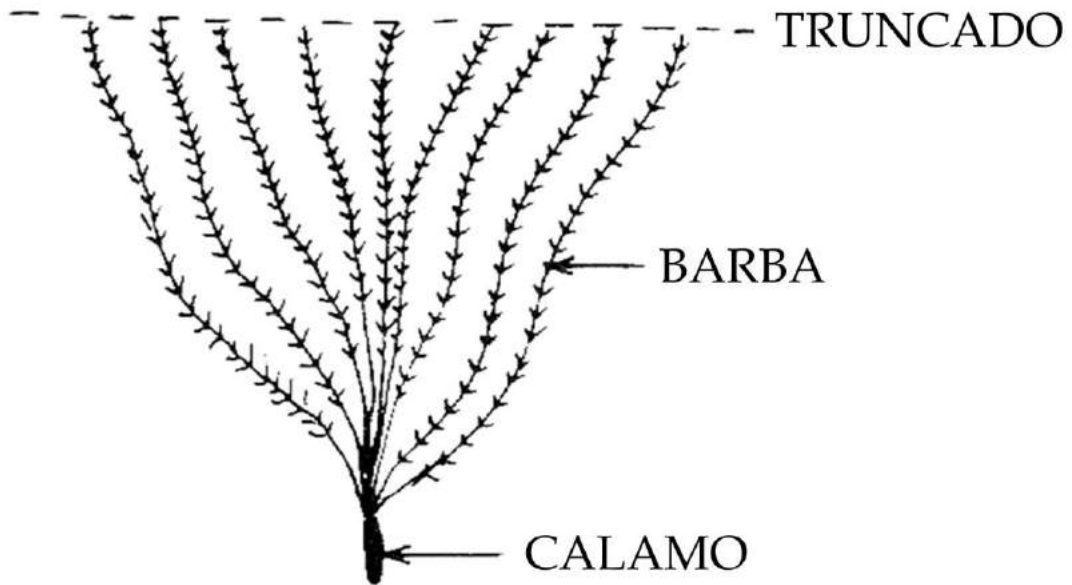


Figura 2: Pluma del pincel Tipo I (plumón). Modificado de Johnston (1988) p. 247.

TIPO II

TIPO II^a

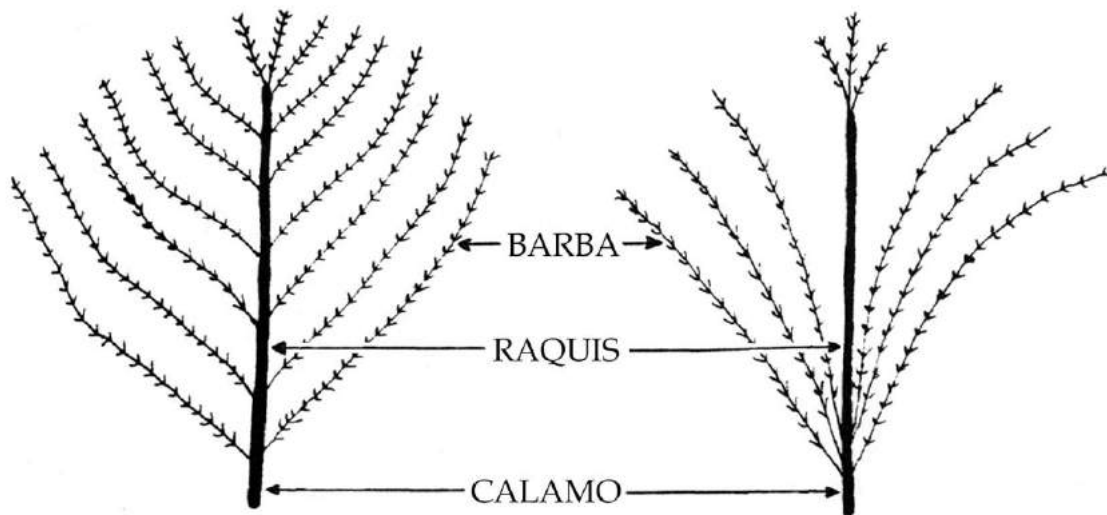


Figura 3: Plumas del pincel Tipo II y IIa (semiplumas). Modificado de Johnston (1988) p. 247.

Tanto Nitzsch (1840) como Paris (1913) clasificaron a la glándula uropigia según la presencia o no del pincel de plumas pudiéndose encontrar “glándulas con pincel” y “glándulas desnudas” (con ausencia de pincel). Sin embargo, Johnston (1988) reorganizó ésta clasificación y clasificó a la glándula según el desarrollo del pincel de plumas en: “desnudas” (sin plumas), “con pincel diminuto” (plumas que se observan sólo con lupa) y “con pincel desarrollado” (plumas que se observan a simple vista); también sostuvo que la mayoría de las aves no Passeriformes tienen glándulas con pincel desarrollado, mientras que las aves Passeriformes todas carecen de esta estructura. A partir del examen de los tipos de glándulas de aves no Passeriformes llegó a la conclusión que la condición primitiva sería la glándula con un pincel desarrollado y que los tipos derivados incluyen aquellas glándulas con pincel diminuto y desnudas en no Passeriformes, y desnudas en Passeriformes. También se puede hacer una distinción, en cuanto al desarrollo de este pincel, entre aves vinculadas a un ambiente acuático y aves terrestres. Las aves acuáticas poseen una mayor cantidad de plumas (Jacob & Ziswiler 1982) con un largo total y con un largo del raquis mayor que las aves terrestres (Chiale & Montalti 2013). Varios investigadores observaron que el pincel de plumas siempre se encuentra saturado con secreción (Schumacher 1919), por lo tanto, éste podría actuar como un reservorio de cierta cantidad de secreción uropigial disponible para cuando se necesite (Chiale & Montalti 2013). Galván y Møller (2013) encontraron que el pincel de plumas está más desarrollado en aves coloniales que en solitarias, estos autores proponen que el pincel atrapa las sustancias producidas por la glándula uropigia facilitando la percepción de olores de individuos conespecíficos; en aves sociales la tasa de encuentros con otros individuos es elevada y también aumenta la prevalencia de bacterias productoras de olor.

Tamaño glandular relativo

El tamaño relativo de la glándula uropigia varía considerablemente entre especies. Kennedy (1971) encontró la glándula más grande en relación al cuerpo en el chochín común (*Troglodytes troglodytes*) (la especie más pequeña que analizó) y la glándula más pequeña en la paloma torcaz (*Columba palumbus*). En este mismo trabajo, describió a la glándula de mayor masa en el pingüino de El Cabo (*Spheniscus demersus*) y la más liviana en el vencejo común (*Apus apus*) y en el herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*).

Jacob y Ziswiler (1982) encontraron glándulas uropigias de mayor tamaño relativo en el zampullín común (*Tachybaptus ruficollis*) (0.61), seguido por el chochín (*Troglodytes troglodytes*) (0.58) y por el porrón americano (*Aythya americana*) (0.54). Estos investigadores también sostuvieron que las aves que nadan y bucean, sin excepción, poseen las glándula uropigias de mayor tamaño; esta regla también se aplicaría a familias que tienen contacto con el agua pero que están generalmente clasificadas como aves terrestres, por ejemplo: el águila pescadora (*Pandion haliaetus*). Para las aves terrestres en general, el tamaño de esta glándula varía enormemente; Galliformes y Passeriformes tienen glándulas relativamente grandes mientras que Ciconiiformes, Columbiformes y Strigiformes poseen glándulas pequeñas. Estos resultados fueron también corroborados por Johnston (1988) quien obtuvo datos sobre la masa glandular relativa al cuerpo de diversos órdenes y familias concluyendo que aquellas aves de mayor tamaño, indefectiblemente tenían glándulas más grandes que las aves de tamaño más pequeño. También relacionó la masa glandular relativa con los hábitos de las aves y encontró que las aves vinculadas a un ambiente acuático (las que nadan, bucean o descansan en el agua) poseen en promedio valores de masa glandular relativos mayores que las aves terrestres. En cambio, Montalti & Salibián (2000) analizaron las masas glandulares relativas en 126 especies de aves (49 familias en total) con distintos hábitos y no encontraron diferencias significativas en cuanto a esta característica entre aves acuáticas y terrestres; lo que sí corroboran es la gran variabilidad de tamaños glandulares entre las aves terrestres. Sin embargo, Møller et al. (2010) realizaron un trabajo en 212 especies de aves de distintos ambientes, clasificándolas como terrestres, parcialmente acuáticas y acuáticas, y encontraron que las especies terrestres poseen glándulas uropigias relativamente pequeñas en comparación con las aves acuáticas y valores intermedios en aquellas aves con hábitos parcialmente acuáticos. Sus resultados también indicaron que las aves que tienen glándulas de mayor tamaño poseen una elevada tasa de éxito reproductivo. En un estudio realizado en especies de Passeriformes se encontró que aquellas vinculadas a un ambiente ribereño tenían glándulas de mayor tamaño que las especies más terrestres (Galván et al. 2008). Más recientemente, Vincze et al. (2013) demostraron que el tamaño de la glándula uropigia es dinámico, aumentando en el período de reproducción, independientemente del sexo de las aves. Cabe destacar que éste aspecto de la glándula uropigia sigue siendo motivo de controversia ya que en la bibliografía es posible encontrar trabajos con resultados opuestos como se planteó previamente.

*Aspectos morfológicos e histológicos**Morfología externa:*

La glándula uropigia se encuentra ubicada dorsal y medialmente en la región del sinsacro, sobre el pigostilo y por arriba de las vértebras caudales libres (Fig. 4) (Jacob & Ziswiler 1982).

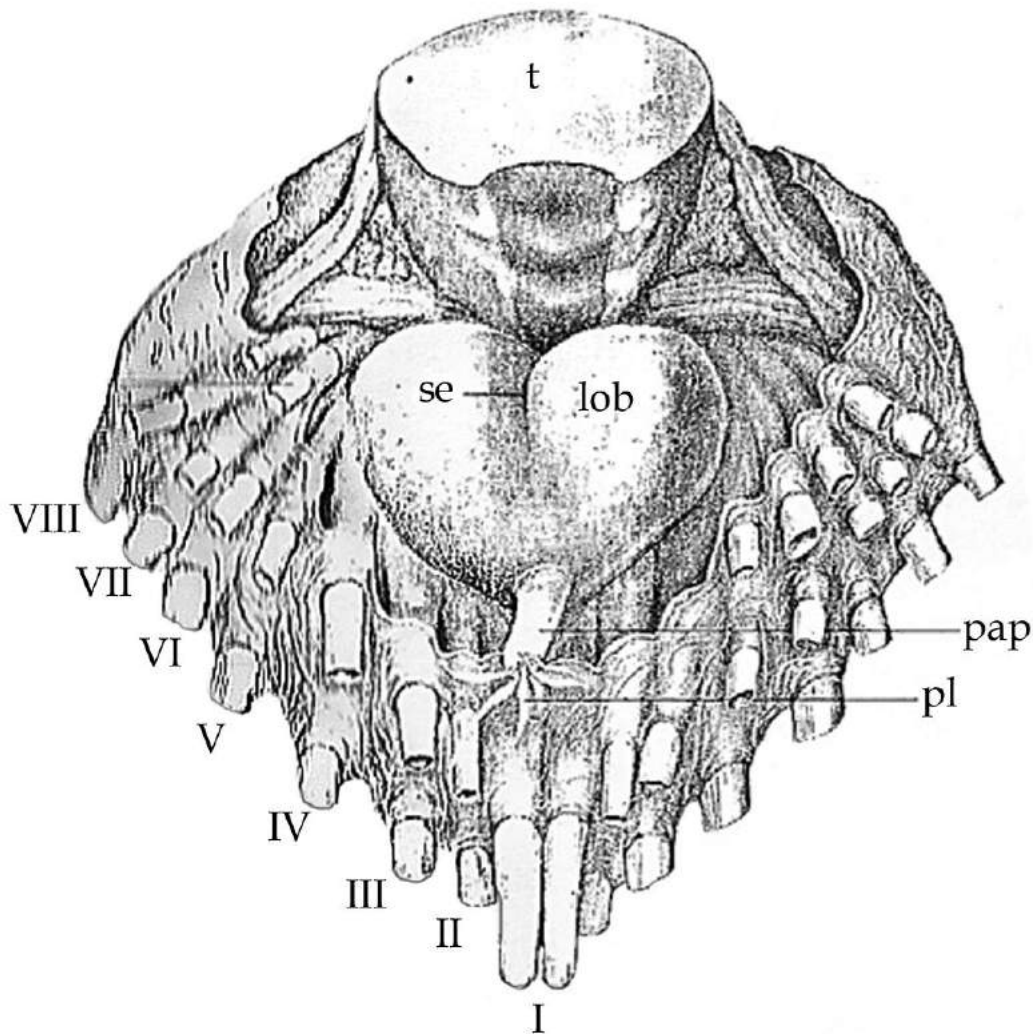


Figura 4: Vista dorsal de la glándula uropigia. Lob: lóbulo, pap: papila, pl: pincel de plumas, se: septo interlobular, t: sección transversal de la cola, uc: cobertoras dorsales, I-VIII: rectrices. Modificado de Jacob & Ziswiler (1982) p. 202.

Como se mencionó anteriormente, en la mayoría de las aves ésta glándula está constituida por dos lóbulos y una papila. En cuanto a la forma externa de los lóbulos

existe una amplia variedad (Fig. 5) (Jacob & Ziswiler 1982, Montalti & Salibián 2009). La forma de la papila también es variable, puede ser cilíndrica (Anseriformes, Gruiformes, Gaviiformes, Piciformes y *Upupa epops*), cónica (típica de Podicipediformes, Charadriiformes, Strigiformes, Caprimulgiformes, Apodiformes y la mayoría de los Cuculiformes) y/o redondeada (Passeriformes) (Jacob y Ziswiler 1982).

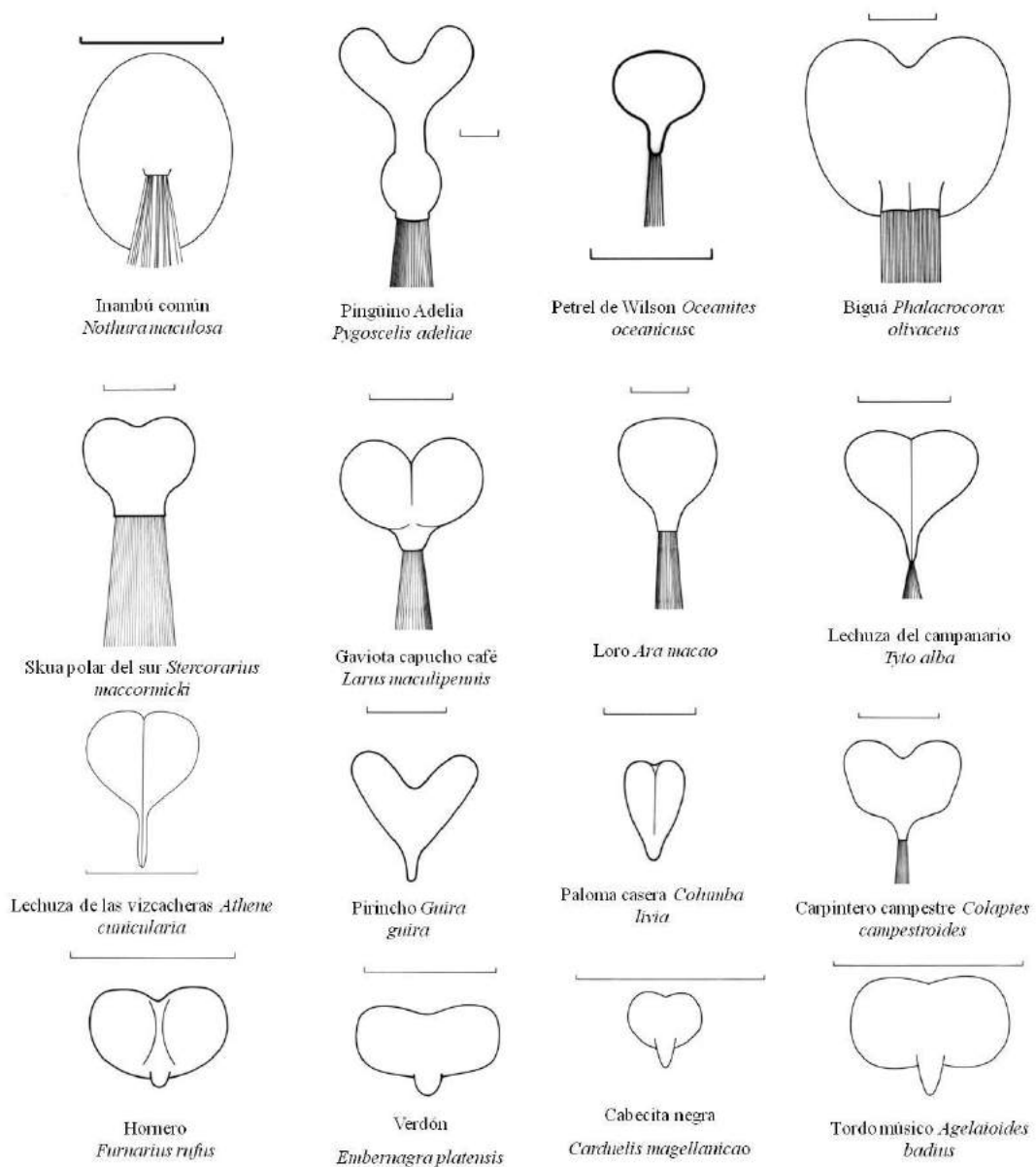


Figura 5: Diversas formas de la glándula uropigia. Tomado de Montalti & Salibián (2009).

Vascularización:

La arteria caudal es la estructura vascular principal que provee suministro sanguíneo a la glándula uropigia. De esta arteria surgen ramas que se continúan en la arteria de la glándula uropigia. Algunas ramas de la arteria pudenda también pueden contribuir con la vascularización de la glándula (Özcan et al. 2004, Atalgin & Kürtül 2008).

El drenaje venoso de la glándula se produce a través de una red de vénulas ventrales y dorsales que recubren la cápsula. Estas vénulas confluyen y se convierten en dos venas paralelas, que a nivel de la primera y segunda vértebras caudales se unen al sistema porta renal (Jacob & Ziswiler 1982).

Musculatura externa:

La musculatura estriada de la cola puede producir un efecto mecánico indirecto sobre la glándula uropigia mediante el movimiento de la cola o las plumas rectrices. Los músculos *levator caudae*, cuyos movimientos permiten levantar y mover la cola lateralmente, pasan por debajo de la glándula y pueden estirla debido a que en algunos grupos de aves se insertan directamente sobre la cápsula que la rodea. Estos músculos se originan en el extremo caudal del isquion e ilion, los procesos transversos de la última porción del sinsacro y en la mayoría de las últimas vértebras caudales libres (Jacob & Ziswiler 1982).

Estructura interna e histología:

El interior de los lóbulos de la glándula uropigia está compuesto por adenómeros tubulares donde se produce la secreción, y cavidades de varios tamaños que cumplen la función de almacenamiento de la secreción uropigial (Fig. 6) (Jacob & Ziswiler 1982).

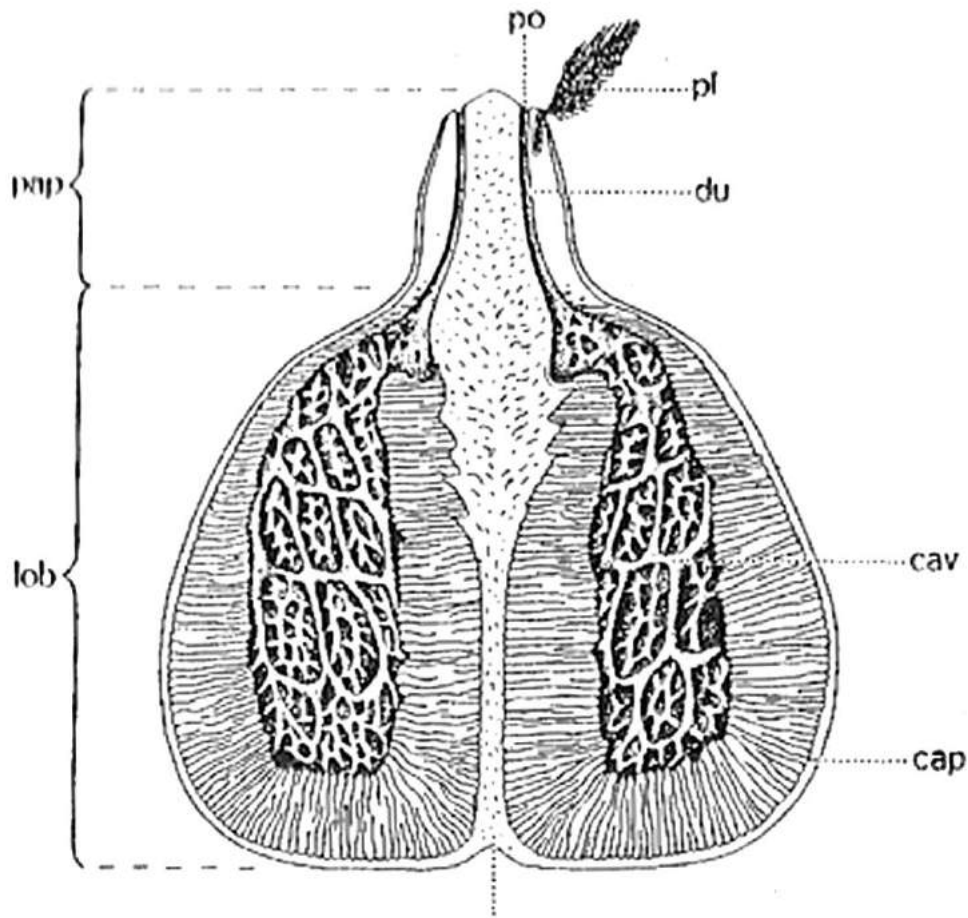


Figura 6: Corte longitudinal de la glándula uropigia, se puede observar su estructura interna. Cap: cápsula, cav: cavidades, du: conducto, lob: lóbulo, pap: papila, pl: pluma del pincel, po: poro excretor. Modificado de Jacob & Ziswiler (1982) p. 224.

La glándula uropigia es una glándula holocrina tubular ramificada. Tanto por las características histológicas, como por el origen epidérmico y por la secreción holocrina de sustancias lipídicas, esta glándula es similar a las glándulas sebáceas de los mamíferos y a las glándulas lipoides de los reptiles (Wagner & Boord 1975). Según Menon et al. (1981) las células de esta glándula, en la paloma, muestran una gran similitud con las células del rictus de la gallina y el perfil de organelas involucradas en la síntesis de lípidos es muy parecido en ambas estructuras.

Externamente, la glándula uropigia está rodeada por una cápsula de tejido conectivo denso; a partir de ésta surge el septo interlobular y de ambos parten trabéculas que

rodean el parénquima. En todas estas estructuras predominan las fibras colágenas aunque también pueden encontrarse fibras elásticas y reticulares (Jacob & Ziswiler 1982, Chiale et al. 2014), contrariamente a lo propuesto por Hou (1928a) quien negó la presencia de dichas fibras en el estroma de esta glándula. En la cápsula también pueden encontrarse vasos sanguíneos, nervios y algunas fibras musculares lisas (Jacob & Ziswiler 1982). Si bien es posible encontrar varias investigaciones que exploraron las características histológicas de la glándula uropigia, no se hizo énfasis en las diferencias que puede llegar a haber entre aves acuáticas y terrestres, y tampoco se realizaron, hasta el día de hoy, estudios histológicos de glándulas uropigias de aves de América del Sur.

El parénquima de la glándula está formado por adenómeros tubulares, el epitelio de los adenómeros es plano estratificado y se pueden diferenciar los siguientes estratos celulares (Lucas & Stettenheim 1972):

- Basal: Es donde se produce la división celular que da lugar al recambio de las células que se diferencian dentro del adenómero. Está compuesto por células cúbicas y puede reconocerse a bajos aumentos como una zona basófila.
- Intermedio: Compuesto por células poligonales con núcleos esféricos y un citoplasma basófilo homogéneo.
- Secretor: Consiste en células poligonales grandes pero en su citoplasma se pueden reconocer vacuolas sudanofílicas que se ven vacías en los cortes coloreados con H-E.
- Degenerativa: Las células de este estrato poseen núcleos picnóticos y acumulan gránulos de citoqueratina en el citoplasma. Los estratos secretor y degenerativo pueden unirse para formar un estrato transicional.

Wagner y Boord (1975) estudiaron los cambios ultra estructurales que se producen en las células de la glándula uropigia que sufren una diferenciación a células secretoras y las dividieron en:

1. Células basales: poseen una apariencia relativamente indiferenciada, con núcleos grandes y ovoides y la cisterna perinuclear con dimensiones normales. El volumen citoplasmático es relativamente pequeño en relación al núcleo. En el citoplasma se observa retículo endoplásmico rugoso (RER) y “clusters” de ribosomas libres, el retículo

endoplásmico liso (REL) es muy escaso y se pueden observar mitocondrias dispersas en el citoplasma.

2. Células secretoras (estadio I): localizadas adyacentes a las células basales, no presentan RER, sin embargo, persisten algunos “clusters” de ribosomas. Las vesículas del REL aparecen frecuentemente formando “clusters” y la cisterna perinuclear está marcadamente dilatada. La cantidad de citoplasma relativa al tamaño del núcleo es mayor que en células basales.

3. Células secretoras (estadio II): El REL está compuesto por sáculos y cisternas en vez de vesículas. La cisterna perinuclear está dilatada y se evidencia rotura de la membrana nuclear.

4. Células secretoras (estadio III): El REL presenta estadios avanzados de diferenciación y producción de secreción. Los sáculos del REL forman lamelas alrededor de las gotas de secreción en desarrollo, la cisterna perinuclear vuelve a tener dimensiones normales.

5. Células secretoras (estadio IV): El citoplasma contiene grandes gotas lipídicas. Estas células degeneran, liberando su contenido a la luz tubular.

Los adenómeros pueden dividirse en tres zonas (Fig. 7) según la altura de su epitelio y la amplitud de la luz tubular (Lucas & Stettenheim 1972, Jacob & Ziswiler 1982):

- Zona I: Corresponde a la porción más periférica de los túbulos; los adenómeros poseen un estrato germinativo bien desarrollado, un estrato intermedio estrecho y un área secretora muy extensa, formada por hasta 10 capas celulares. El estrato degenerativo y el lumen son pequeños.
- Zona II: Es la parte del medio de los túbulos y los adenómeros tienen un estrato basal formado por una sola capa celular y tanto el estrato intermedio como el germinativo están más desarrollados.
- Zona III: Incluye la porción más interna de los túbulos. Aquí se unen y forman túbulos colectores o cámaras secundarias, que finalmente confluyen en una cámara primaria de almacenamiento. Los estratos intermedio y secretor disminuyen su altura y el epitelio se cornifica hacia el lumen. La función principal de los túbulos en esta zona sería de transporte de la secreción.

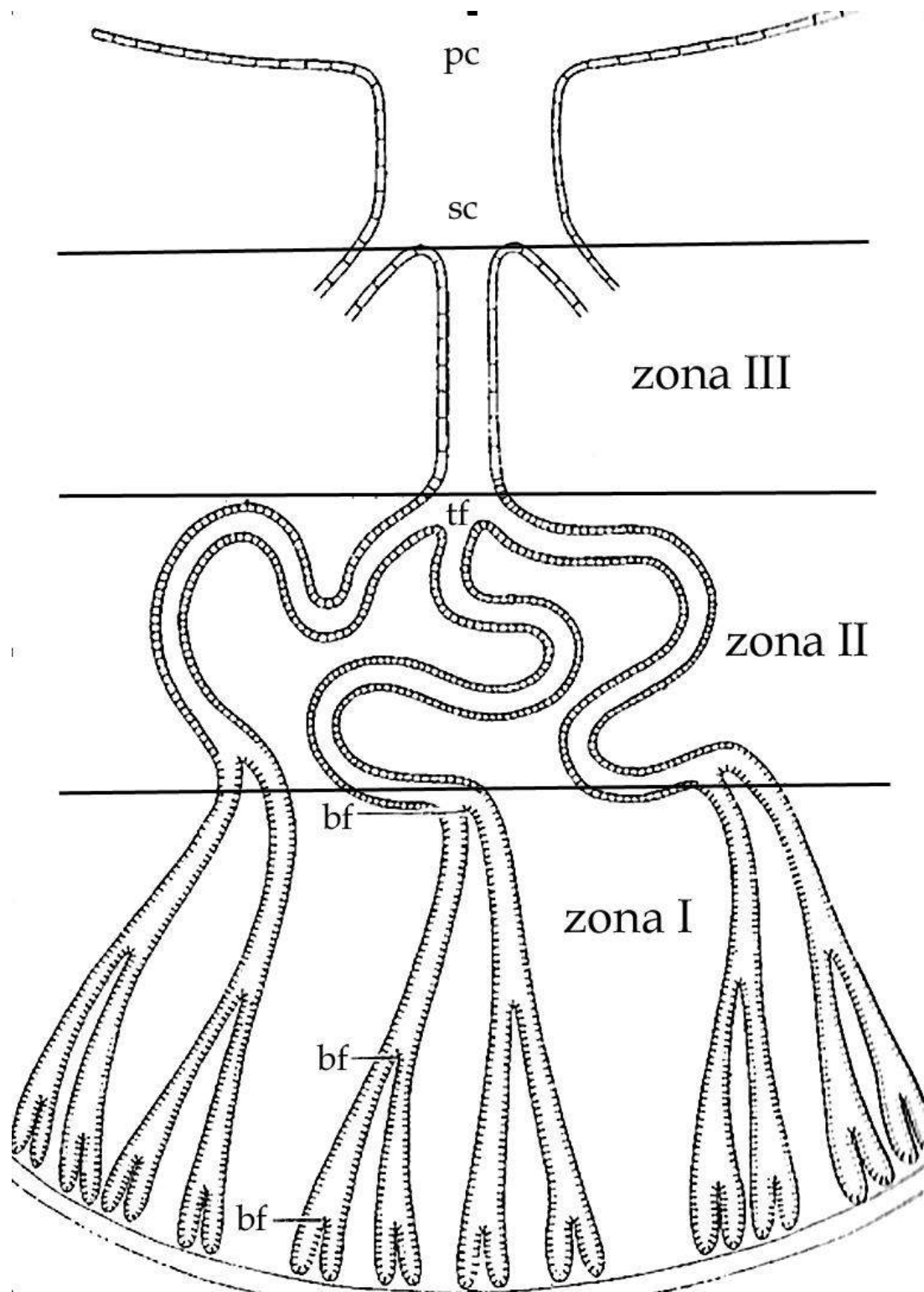


Figura 7: Esquema de la división de los túbulos en tres zonas según la altura del epitelio y la amplitud de la luz tubular: bf: bifurcación, pc: cámara primaria, sc: cámara secundaria, tf: trifurcación. Modificado de Jacob & Ziswiler (1982) p. 233.

La papila de la glándula uropigia también varía en cuanto a su forma en diferentes especies (Fig. 8). Jacob & Ziswiler (1982) propusieron una clasificación según la histología de esta estructura:

- Papila delicada: La característica principal de esta papila es la presencia de poros excretores con luz muy amplia que, generalmente, están separados por un fino tabique de tejido conectivo. El epitelio de los poros es plano estratificado con aspecto cornificado. Puede carecer de plumas del pincel pero se encontraron papilas delicadas con pincel de plumas en Tinamiformes, Podicipediformes y en la familia Laridae, orden Charadriiformes.
- Papila compacta: Este tipo de papila posee poros excretores estrechos y la estructura del epitelio estratificado de estos conductos es similar a la de la epidermis. Los poros están rodeados por tejido conectivo denso pero también pueden encontrarse zonas de tejido conectivo laxo. En este tipo de papila es frecuente la presencia de folículos plumosos y fibras musculares lisas, aunque en algunas aves no se han encontrado.
- Papila de tipo intermedio: En muchas especies de aves no es posible definir un tipo de papila específico, por lo tanto, son difíciles de clasificar; tal es el caso de las papilas de Charadriiformes, Psittaciformes, Piciformes, Pelecaniformes, Anseriformes, Phoenicopteriformes y la familia Gruidae. En este tipo de papila se pueden encontrar poros amplios y una musculatura lisa formando un esfínter alrededor de los poros.
- Papila tipo “verruga”: Es típica de los Passeriformes y considerada un tipo especializado de papila. Posee un aparato valvular formado por dos lamelas de tejido conectivo denso y fibras elásticas. Estas válvulas evitan el reflujó de la secreción hacia los lóbulos. También es posible encontrar numerosos corpúsculos de Herbst.

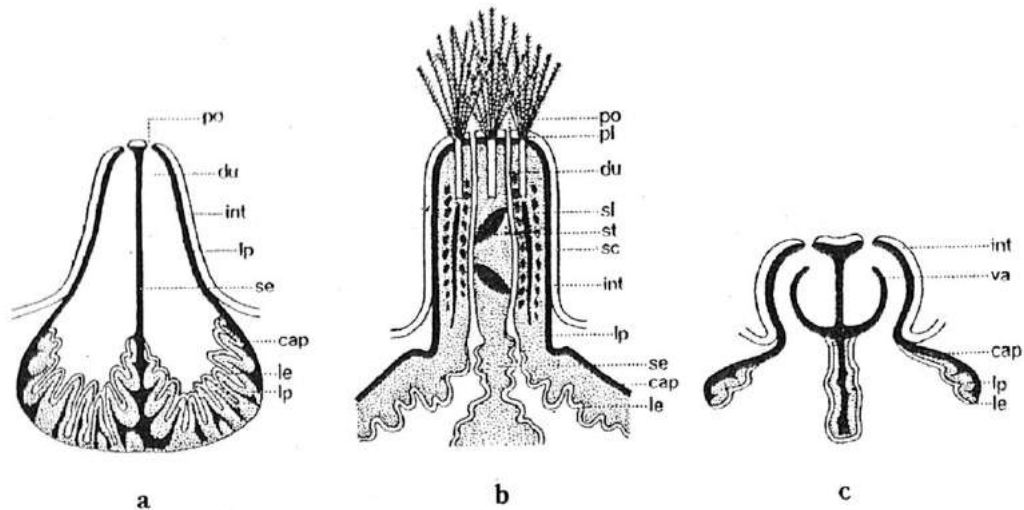


Figura 8: Distintos tipos de papila, a: delicada; b: compacta y c: tipo "verruca". Modificado de Jacob & Ziswiler (1982) p. 218.

Composición química de la secreción uropigial

La secreción uropigial consiste en una mezcla de fragmentos celulares, láminas córneas y sebo producido por las células secretoras de los adenómeros (Jacob & Ziswiler 1982). La glándula uropigia es una fuente única de producción de monoesteres de cera y otros compuestos lipídicos inusuales. El perfil de ácidos grasos y otros compuestos de la secreción uropigial fue estudiado en detalle en varias especies (Jacob 1976a, 1976b, Jacob 1978).

Los lípidos que pueden encontrarse en la secreción uropigial comprenden (Jacob & Ziswiler 1982):

- Monoesteres de cera: Esteres de alcoholes alifáticos y ácidos grasos son los componentes predominantes en la secreción. Todos los ácidos y alcoholes presentes en la secreción uropigial son saturados, esto puede deberse a que los lípidos insaturados se oxidan en contacto con el oxígeno atmosférico y esto podría llevar a formar una resina sobre las plumas impregnadas con secreción uropigial y por lo tanto constituir una desventaja para las aves.
- Diesteres de cera: hay cinco tipos de diesteres encontrados (aquellos que contienen 2-hidroxi ácidos esterificados con n-alcanoles y ácidos grasos no

ramificados, diesteres de cera con 3-hidroxi ácidos esterificados con n-alcanoles y ácidos grasos no ramificados, los que poseen 1,2-alcano dioles esterificados con ácidos grasos no ramificados, diesteres con 2,3-eritro-alcandioles esterificados con ácidos grasos no ramificados y aquellos que contienen 2,3-threo-alcano dioles).

- Triesteres de cera: compuestos por ácido hidroxi-malónico, n-alcanoles y ácidos grasos no ramificados.
- Glicéridos: son comunes los triglicéridos pero se consideran como productos regulares de la descomposición celular y no como verdaderos componentes de la secreción.
- Esteroles: el colesterol suele estar presente en la secreción uropigial de algunas aves Passeriformes.
- Hidrocarburos: el escualeno es un componente principal de la secreción uropigial de dos especies de Anseriformes.

La composición lipídica de la secreción uropigial se utilizó como herramienta taxonómica ya que se demostró cierta relación entre la composición química y la cercanía filogenética de algunos grupos de aves (Jacob & Grimmer 1975, Hoerschelmann & Jacob 1996). Sin embargo, en otros trabajos se demostró que la composición química de la secreción es muy variable.

Kolattukudy & Sawaya (1974) demostraron la existencia de cambios en los lípidos de la secreción uropigial de gallinas, que se relacionan con la edad de las aves, específicamente encontraron variaciones significativas en la distribución del largo de las cadenas de acilos de diol-ésteres. Los resultados que obtuvieron mostraron que pueden existir cambios significativos en la secreción uropigial a lo largo de la maduración de las aves y que, una vez alcanzada la madurez, los cambios son menores.

Kolattukudy et al. (1985a, 1985b) realizaron varios trabajos con el objetivo de determinar cambios en la composición de lípidos de la secreción uropigial en distintos estadios fisiológicos en el ánade real (*Anas platyrhynchos*). Estos autores encontraron que, durante el período de eclipse (plumaje adquirido luego de la época de apareamiento y similar al plumaje de las hembras) de los machos de esta especie de anátido, los esterres de cera con grupos acilos de cadena larga son los componentes que

reemplazan a los ésteres de cera con ácidos de cadena corta. También observaron que, una vez finalizado el eclipse, se revierte la situación. Los cambios que estos autores encontraron coincidieron con un aumento en la actividad de la enzima S-acil ácido graso sintetasa tioesterasa, la cual estaría involucrada en la producción de ésteres de cera con ácidos grasos de cadena corta y su expresión sería inhibida durante el eclipse. En otro trabajo, Kolattukudy et al. (1987) analizando la secreción uropigial, encontraron diferencias en la composición de lípidos presentes en hembras de *Anas platyrhynchos*; estos autores describieron tres tipos de composiciones que coincidieron con tres diferentes estadios fisiológicos. Durante la mayor parte del año predominaron los monoésteres de cera que contienen cadenas cortas de ácidos grasos; éstos compuestos son reemplazados por diésteres de 3-hidroxi ácidos grasos. Cuando termina la época reproductiva, las hembras entran en eclipse y se generan monoésteres de ácidos grasos de cadena larga que luego vuelven a ser reemplazados por monoésteres de ácidos grasos de cadena corta una vez terminado el eclipse. También se encontró dentro de la composición química de la secreción uropigial de las hembras de *Anas platyrhynchos* aquellos compuestos involucrados en la conformación de feromonas (Kolattukudy & Rogers 1987).

Reneerkens et al. (2002, 2008) evaluaron la hipótesis de que especies de la familia Scolopacidae cambian la composición de la secreción uropigial durante la época reproductiva (de monoésteres de cera a diésteres). Examinaron la composición química de la secreción uropigial en 19 especies de esta familia y todas mostraron el mismo cambio de compuestos en la secreción, y a partir de sus resultados propusieron que los diésteres que predominan en la secreción durante la época reproductiva aumentan el mimetismo olfatorio en el nido.

Haribal et al. (2009) estudiaron la composición química de la secreción uropigial en las familias Thamnophilidae y Formicariidae, y aquellas filogenéticamente relacionadas: Dendrocolaptidae, Tyrannidae y Pipridae; el objetivo de su trabajo fue comprender el rol que cumple el ambiente en los componentes de la secreción. Encontraron que la secreción en Thamnophilidae consiste en ácidos de cadena larga, alcoholes, ésteres, hidrocarburos insaturados e isoprenoides. La familia Formicariidae contiene exclusivamente escualeno y sus derivados. La familia Pipridae posee ésteres complejos de cadena larga. En Dendrocolaptidae, la secreción uropigial contiene ésteres de cadena larga con ácidos saturados y monoinsaturados, combinados con mono-

alcoholes y en Tyrannidae encontraron ésteres de cadena larga con ácidos saturados, mono y triinsaturados con dioles. El hecho de encontrar compuestos saturados e insaturados de alto peso molecular en aves tropicales sugiere que la volatilidad de los compuestos de la secreción uropigial se correlaciona con la temperatura ambiental. Si estos compuestos de alto peso molecular se sintetizaran durante el invierno, se solidificarían a bajas temperaturas y tendrían un efecto adverso en las plumas de vuelo, por lo tanto, las aves que residen en regiones templadas habrían evolucionado para producir compuestos de bajo peso molecular durante los meses de bajas temperaturas (Haribal et al. 2005, 2006).

Funciones de la glándula uropigia

Son variadas las funciones que se le atribuyen a este órgano; para la mayoría de los autores, su secreción rica en lípidos, es de gran importancia en el mantenimiento del plumaje. Si bien en principio se consideraba que el aceite uropigial confería impermeabilización al plumaje (Kossman 1871, Weitzel 1951), se determinó que la estructura de la pluma en sí misma es impermeable (Law 1929, Madsen 1941, Rutschke 1960) y la secreción uropigial solo ayudaría a mantener esa estructura en condiciones (Jacob & Ziswiler 1982).

Se realizaron varios experimentos para poder probar esta función, por ejemplo, se removió la glándula uropigia de algunos ejemplares pichones de porrón americano (*Aythya americana*) y de pato cuchara común (*Anas clypeata*). Cuando éstos adquirieron su plumaje juvenil se vio que éste era áspero y opaco, y que además se mojaba con mayor facilidad. También se observó que las plumas de los patos sin glándulas no conservaban su arreglo estructural normal, sin embargo, la actividad de *preening* (secuencia y frecuencia) ocurrió en patos con y sin glándula uropigia por igual (Elder 1954). Rutschke (1960) removió con solvente la capa de aceite uropigial depositada sobre plumas de pato y éstas no perdieron su impermeabilidad, incluso luego de la extirpación de la glándula uropigia no observó que el agua penetrara el plumaje, aunque las plumas tomaron un aspecto áspero. Moyer et al. (2003) estudiaron el efecto de la extirpación de la glándula uropigia en la paloma doméstica (*Columba livia*) sobre las condiciones del plumaje y determinaron que las palomas que carecían de glándula mostraron cambios significativos en las condiciones del plumaje luego de varios meses

de ausencia de secreción uropigial. Estos autores también pusieron a prueba la hipótesis que propone que la secreción uropigial posee propiedades insecticidas y que la reducción de las condiciones del plumaje de las palomas sin glándulas se debería a un aumento en la carga de ectoparásitos (específicamente piojos degraadores de plumas del Suborden Ischnocera).

Si bien los cambios en el aspecto del plumaje fueron significativos, no se encontraron efectos en la carga de piojos en aquellas aves que carecían de glándula uropigia, por lo que la secreción uropigial no cumpliría un rol importante en la defensa contra piojos, al menos en esta especie. Más recientemente, Giraudeau et al. (2010), estudiaron los efectos de la privación al acceso a la secreción de la glándula uropigia en el ánade real (*Anas platyrhynchos*) para evaluar los efectos sobre la impermeabilización y condiciones del plumaje. Luego de tres meses de tener bloqueado el acceso a la glándula uropigia, el plumaje de estos patos mostró una disminución significativa de sus condiciones y también un aumento en la retención de agua, lo que indica una fuerte correlación entre la condición del plumaje y la habilidad de retención de agua por parte de las plumas.

Con respecto al efecto de la secreción uropigial sobre ectoparásitos, en el herrerillo común (*Parus major*) se realizó un estudio que evidenció una relación entre la cantidad de piojos degraadores de plumas y el tamaño de la glándula uropigia (Galván & Sanz 2006); estos autores encontraron que hay una correlación positiva entre el tamaño de la glándula uropigia y el número de piojos presentes, sugiriendo que el tamaño de la glándula explicaría la variación en la carga de piojos entre individuos. Por otro lado, Galván et al. (2008) demostraron que hay una correlación positiva entre el tamaño de la glándula uropigia de Passeriformes y la abundancia de ácaros (Arachnida: Acari: Astigmata) que se alimentan específicamente de la secreción uropigial de las aves. Las especies vinculadas a un ambiente ribereño poseen glándulas de gran tamaño y mayor carga de ácaros que las especies más terrestres.

A la secreción uropigial también se le atribuyen funciones de defensa contra microorganismos como bacterias y hongos (Bandyopadhyay & Battacharyya 1996; 1999).

Moller et al. (2009) demostraron que la abundancia de bacterias degraadoras del plumaje en la golondrina tijerita (*Hirundo rustica*) disminuía con el aumento del tamaño de la glándula uropigia. Más recientemente, Jacob et al. (2014) propusieron que la

glándula uropigia funciona como un mecanismo de defensa que evita la colonización y mantenimiento de microorganismos patogénicos, protegiendo a las aves de infecciones y degradación del plumaje. En este trabajo estudiaron si el herrerillo común (*Parus major*) modificaba el tamaño de la glándula uropigia en respuesta a la cantidad de microorganismos; sus resultados indicaron que: los machos modifican el tamaño glandular en respuesta a la exposición de una densidad alta de bacterias en el plumaje. También encontraron que la abundancia relativa de los ésteres de cera cambia según el sexo pero solo algunos de estos ésteres cambiaron exclusivamente en las hembras cuando se las exponía a una gran carga de bacterias en el plumaje.

No todos los microorganismos ocasionan daños en el plumaje, Ruiz-Rodríguez et al. (2009) encontraron que en la secreción uropigial de la abubilla (*Upupa epops*) vive una bacteria (*Enterococcus faecalis*). El ave se beneficiaría con esta simbiosis ya que *E. faecalis* produce toxinas que actúan sobre bacterias degradadoras del plumaje como *Bacillus licheniformis*. Recientemente, Vivaldi et al. (2014) encontraron que la secreción uropigial de la abubilla contiene agentes antimicrobianos producidos por bacterias mutualistas, que actuaría previniendo infecciones en los embriones de esta especie. En su trabajo encontraron que la cáscara de los huevos de la abubilla posee criptas especializadas y que las hembras esparcen sobre los huevos secreción uropigial que contiene bacterias simbióticas; este hecho apoya una fuerte asociación entre la secreción uropigial y las bacterias con la cáscara de los huevos. También detectaron una asociación entre las bacterias simbióticas y el éxito de eclosión, lo que sugiere que las criptas de la cáscara aumentarían la adhesión de los simbioses presentes en la secreción uropigial y, con ello, se protegería a los embriones de infecciones.

También se postula el rol de las secreciones uropigiales como feromonas. Varios estudios encontraron que la glándula uropigia de las hembras de ánade real (*Anas platyrhynchos*) funcionaba como órgano productor de feromonas sexuales (diésteres de 3-hidroxi ácidos grasos) durante la época reproductiva (Kolattukudy & Rogers 1987, Kolattukudy et al. 1987, Bohnet et al. 1991). Hirao et al. (2009) demostraron que en el gallo doméstico (*Gallus gallus domesticus*), aquellos individuos a los que no se les ablacionó el bulbo olfatorio mostraban preferencia en su elección de hembras a las cuales se les había dejado intacta la glándula uropigia y propusieron que la preferencia en la elección de parejas involucra la olfacción de los machos, y que la glándula uropigia de las hembras funcionaría como una fuente de señales olfatorias para esta

especie. En un estudio realizado en la cotorrita australiana (*Melopsittacus undulatus*) se demostró la presencia de compuestos más volátiles en machos que en hembras y que éstas mostraban preferencia por el olor de las secreciones uropigiales de los machos o su equivalente (mezcla de los 3 alcanoles) esparcida en el plumaje de otros machos (Zhang et al. 2010).

Ciertas aves aplican sustancias sobre sus plumas, aparentemente, de manera deliberada (Montgomery 2006). Se propuso el uso de la secreción uropigial como cosmético para intensificar o cambiar la coloración del plumaje (Hingston 1933). Surmacki & Nowakowski (2007) demostraron que la secreción uropigial y la tierra aplicadas sobre las plumas contribuyen a la variación en la coloración del plumaje en el herrerillo común (*Parus major*) determinado por pigmentos carotenoides. Piauult et al. (2008) propusieron que la aplicación de secreción uropigial sobre el pico podría mediar en los cambios rápidos de coloración; también observaron que las ceras producidas por la glándula uropigia de pichones del cárabo común (*Strix aluco*) disminuyen el brillo del pico y que los individuos más saludables poseían picos menos brillosos, vinculando el estado inmunológico con el efecto de la secreción sobre el brillo de los picos. El efecto de la secreción uropigial sobre el brillo del plumaje fue estudiado por Piersma et al. (1999) quienes tras analizar la composición química de la secreción uropigial en el playerito rojizo (*Calidris canutus*), correlacionaron el cambio de monoésteres de cera a diésteres de cera durante la época reproductiva a un aumento en el brillo del plumaje en este período. En 2010, Amat et al., propusieron el uso de la secreción uropigial como cosmético en el flamenco común (*Phoenicopterus roseus*). Esta especie utiliza la secreción como cosmético con más frecuencia durante el período reproductivo que en otra época del año y sugieren que la coloración cosmética juega un rol en la elección de parejas.

Son escasos los estudios que involucran tanto técnicas de histoquímica como lectin e inmunohistoquímica en la glándula uropigia y no hay análisis que relacionen las características histológicas e histoquímicas de ésta glándula en aves de distintos ambientes y con diverso grado de contacto con el agua. Tampoco hay datos sobre la morfología de glándulas uropigias de especies de América del Sur.

Teniendo en cuenta los aspectos aún desconocidos de la glándula uropigia, expuestos anteriormente, se proponen las siguientes hipótesis y objetivos:

Hipótesis

1. La glándula uropigia (y también su estructura asociada: el pincel de plumas) está más desarrollada en aves acuáticas que en terrestres ya que las aves vinculadas a ambientes acuáticos deben mantener su plumaje en condiciones para permanecer aisladas del agua.
2. La estructura histológica se relaciona también con lo mencionado previamente, las aves acuáticas poseen mayor cantidad de tejido productor de secreción que las aves terrestres y no cuentan con cisternas de almacenamiento debido a que requieren de una producción continua de secreción uropigial.
3. La secreción uropigial presenta diferentes compuestos en aves acuáticas y terrestres, relacionados con las funciones que se le atribuyen a la glándula (mantenimiento del plumaje en condiciones, acción microbicida, etc.).

Objetivos

Objetivo general:

- Investigar comparativamente las características estructurales de la glándula uropigia en diferentes especies de aves que habitan diversos ambientes.

Objetivos específicos:

- Analizar comparativamente la estructura histológica de la glándula uropigia en aves de ambientes acuático y terrestre.
- Determinar el grado de desarrollo de la glándula uropigia y del pincel de plumas en aves de distintos ambientes.
- Estudiar la composición química de la secreción comparando las aves por ambiente.
- Determinar la posible función de la glándula uropigia relacionando los distintos aspectos estudiados durante la realización de la tesis con los diferentes hábitats de las aves teniendo en cuenta rasgos del comportamiento de las especies estudiadas.

Capítulo II

Materiales y Métodos



MATERIALES Y MÉTODOS

Especies estudiadas

Las aves que se utilizaron para realizar este trabajo se dividieron por ambiente.

- Ambiente acuático marino: pingüino de Adelia *Pygoscelis adeliae* y pingüino Papua *P. papua*; petrel de Wilson *Oceanites oceanicus* y petrel de vientre negro *Fregetta tropica*, skúa pardo *Stercorarius antarcticus* y skúa polar del sur *S. maccormicki*.

Los pingüinos (Spheniscidae) son un grupo de aves altamente especializadas; todas las especies de pingüinos explotan zonas marinas ricas en nutrientes; las especies Antárticas y subantárticas se alimentan principalmente de kril (*Euphausia*), cefalópodos y peces (Williams 1995). Algunas características morfológicas distintivas de este grupo son: 1. Cuerpo enteramente cubierto por plumas (sin apterios) muy especializadas, pequeñas, lanceoladas y ligeramente curvadas, con un raquis alargado y aplanado del cual surge un hiporraquis que cumple la función de un plumón. 2. Tienen huesos sólidos y pesados (no neumáticos). 3. El tarso-metatarso es corto y robusto.

Estas aves poseen tres modos distintos de locomoción sobre el agua: 1. “Nado superficial”, utilizado para descansar o acicalarse. En este tipo de movimiento la mayor parte del cuerpo queda más o menos sumergido mientras que la cabeza o la cola quedan por fuera del agua, 2. “Buceo”, similar al vuelo pero por debajo del agua, la profundidad de buceo depende básicamente de la localización de las presas y esto puede variar según la estación del año o incluso en un mismo día; tanto el pingüino de Adelia como Papua pueden permanecer debajo del agua por siete minutos, y 3. “Porpoising”, es una variante de nado superficial en la que las aves realizan movimientos ondulantes, saltando fuera y dentro del agua a intervalos regulares. El propósito de este tipo de movimiento no es claro pero puede ser que reduzca el gasto de energía una vez que se alcanza determinada velocidad cortando la resistencia del agua que el ave desplaza; otra posible función de este tipo de desplazamiento sería la de permitir una respiración eficiente con bajo costo en términos energéticos y también podría servir para reemplazar periódicamente la capa de aire tibio aislante que hay entre la piel y las plumas o como maniobra anti-predadores diseñada para confundir a los mismos (Martínez 1992).

Los petreles de las tormentas (Hydrobatidae) son aves estrictamente marinas, pequeñas y ágiles, vuelan a baja altura sobre la superficie del agua (Warham 1990). Son extremadamente aéreos y rara vez pueden verse posados sobre el agua. Se alimentan de crustáceos planctónicos, particularmente eufáusidos (kril) y anfípodos, pero también consumen calamares y peces. Para obtener sus presas vuelan bajo sobre el agua con sus patas suspendidas y se apoderan de ellas sólo introduciendo sus cabezas en el agua; varias especies, en particular los dos miembros del género *Oceanites* (poseen patas con membrana interdígital de color amarillo), “chapotean” sobre la superficie; las presas son atraídas o asustadas por esta actividad y luego serían más fáciles de detectar (Carboneras 1992).

Los skúas (Stercorariidae) habitan ambientes marinos y están muy relacionados filogenéticamente con las gaviotas (Laridae), se cree que divergieron de este grupo hace 10 millones de años, hacia finales del Pleistoceno (Furness 1992). La familia Stercorariidae posee 7 especies, distribuidas casi equitativamente en los hemisferios norte y Sur. Estas aves tienen varios aspectos que se asocian a la piratería y depredación. Las hembras de esta familia son más grandes que los machos y este dimorfismo sexual reverso se encuentra asociado con aquellas diferencias comportamentales entre los sexos durante el período reproductivo, como también ocurre en algunas especies de aves rapaces terrestres. Una particularidad anatómica es su fuerte pico terminado en un poderoso gancho que les sirve para desgarrar el alimento más efectivamente que las gaviotas; también tienen garras afiladas y éste es un rasgo peculiar entre las patas de tipo palmado. El plumaje de estas aves es oscuro y se piensa que es un tipo de funciona como camuflaje permitiéndoles acercarse mucho a sus potenciales víctimas de cleptoparasitismo; también tienen un plumaje denso en la cabeza y el cuerpo lo que les serviría para mantenerse bien aislados del ambiente junto con sus patas, cortas y con una densa podoteca. Los skúas tienen un amplio rango de conductas alimenticias entre las cuales se destacan como “piratas”, predadores y carroñeros. La “piratería” o cleptoparasitismo la llevan a cabo atacando o incluso lastimando otras especies de aves, causando que suelten su presa o incluso regurgiten la comida, de manera que el skúa recupera ese alimento y lo consume (Furness 1992). El skúa pardo *Stercorarius antarcticus lonnbergi* se distribuye en la Península Antártica e islas subantárticas e islas de los Océanos Atlántico, Pacífico e Índico. Esta última especie tiene una preferencia por atacar aves marinas como petreles de las tormentas y pingüinos, predan sobre huevos y pichones de éstos últimos y también se alimentan de

placentas y carcasas de focas. El skúa polar del sur *Stercorarius maccormicki* habita el continente Antártico y la Península Antártica, es una especie migratoria y pasa el invierno en el Hemisferio Norte llegando hasta Alaska y Groenlandia (Furness 1992). Se alimenta principalmente de peces y kril, aunque también incorpora en su dieta huevos y pichones de pingüino y carroña (Olsen & Larsson 1997, Graña Grilli & Montalti 2012).

- Cuerpos de agua continentales: macá tobiano *Podiceps gallardoi*, biguá *Phalacrocorax brasilianus* y flamenco austral *Phoenicopterus chilensis*.

Los macáes (Podicipedidae) son aves estrictamente acuáticas, ocupan cuerpos de agua dulce, en particular lagos eutróficos poco profundos. Su cuerpo está perfectamente adaptado para el buceo; el largo del cuello, la forma del cuerpo y el tamaño y forma del pico de las diferentes especies de la familia están relacionados con el tipo de alimentación que poseen y la profundidad que alcanzan al sumergirse. Cuando estas aves se sumergen, las alas quedan dobladas y debajo del plumaje de los flancos; a diferencia de los pingüinos, los macáes utilizan las patas como propulsores y no las alas. Los buceos duran entre 10 y 40 segundos y alcanzan menos de siete metros de profundidad. El plumaje de este grupo es muy denso (cada ave posee más de 20.000 plumas) y provee eficiente aislación del agua. (Llimona & del Hoyo 1992).

La familia Phalacrocoracidae incluye a los cormoranes, estas aves se caracterizan por tener un tamaño mediano a grande y están vinculadas a un ambiente acuático. El plumaje, la morfología y el tamaño corporal son similares en ambos sexos, aunque los machos pueden ser más grandes y pesados. El cuerpo es robusto y elongado, mientras que el cuello, la cabeza y el pico son largos. El pico se encuentra lateralmente comprimido y presenta un gancho en su extremo. En muchas especies el plumaje es oscuro o muy negro y puede tener un brillo metálico verdoso o azulado. La mayoría de las especies del Hemisferio Sur retuvieron la coloración oscura en la región dorsal del cuerpo pero tienen la región ventral blanca. Los dos tipos básicos de coloración podrían relacionarse con el modo de alimentación de estas aves buceadoras: las especies con región ventral blanca se alimentarían cerca de la superficie del agua, ya que serían menos visibles desde abajo; en contraposición, aquellas especies con plumaje uniformemente oscuro se alimentarían a mayor profundidad, pescando bien

debajo de la superficie donde hay menos luz solar. Si bien los cormoranes no están estrechamente relacionados a cuerpos de agua dulce, frecuentemente se los puede encontrar en este tipo de ambiente (lagos, pantanos, ríos, lagunas y estuarios). Los cormoranes se distribuyen en todo el mundo, están presentes en todos los océanos y grandes islas, así como también en cuerpos de agua continentales. Se alimentan principalmente de peces, aunque también pueden consumir invertebrados (crustáceos, cefalópodos y otros moluscos, poliquetos, nematodos y holoturoideos). En cuerpos de agua dulce pueden ingerir anfibios (especialmente anuros y sus larvas), insectos acuáticos y también, serpientes acuáticas y tortugas. Los cormoranes cazan sus presas mediante persecución por buceo. El tiempo que pasan dentro del agua es corto y lo dedican básicamente a pescar. A diferencia de otras aves acuáticas, no permanecen dentro del agua mientras descansan, sino que utilizan cualquier objeto sobresaliente para perchar. Estas aves suelen adoptar una postura característica denominada “wing spread” (alas extendidas) y suelen mantenerla por largos períodos de tiempo. El significado de esta postura fue interpretado de varias maneras: para termorregulación, para secar su plumaje, para poder mantener el balance en una postura recta, o para producir señales intraespecíficas como anunciar una pesca exitosa. El biguá (*Phalacrocorax brasilianus*) se distribuye desde Panamá al Cabo de Hornos, habita una amplia variedad de humedales, pudiéndose encontrar en cuerpos de agua dulce y costas marinas (Orta 1992).

Los flamencos (Phoenicopteridae), son aves que poseen cuellos y patas muy largas en relación con al tamaño corporal. Las largas patas les facilitan vadear a mayor profundidad que otras aves vadeadoras, mientras que sus largos cuellos les permiten alimentarse a partir del fango del fondo del cuerpo de agua que ocupan. Otra adaptación que les permite a los flamencos aumentar la profundidad a la cual vadean es la reducción del plumaje en la tibia, por lo tanto, no suelen tener mucho contacto con el agua aunque pueden nadar con facilidad. El plumaje rosado con las plumas del vuelo negras (primarias) es característico de las seis especies y la morfología del pico los distingue particularmente ya que está doblado en un ángulo de 90°. Los bordes y la región interna del pico se encuentran recubiertos de estructuras córneas denominadas lamelas; se disponen en filas a lo largo de las maxilas y se alimentan por filtración, mecanismo comparable al utilizado por las ballenas (Mysticeti). Estas aves son muy específicas en cuanto a los ambientes que ocupan, éstos son lagunas grandes o lagos alcalinos poco profundos, generalmente con altas concentraciones de sal. Resisten

condiciones extremas como altos niveles de carbonato de sodio, sulfatos, fluoruros y cloruros, junto con temperaturas muy altas o muy bajas como ocurre durante el invierno en la región del altiplano. La dieta varía según las especies y la morfología del pico; el género *Phoenicopterus* se alimenta principalmente de invertebrados acuáticos vadeando en aguas poco profundas, con la cabeza hacia abajo y el pico en una posición invertida y horizontal. El flamenco austral (*Phoenicopterus chilensis*) habita lagunas y lagos salobres, y estuarios. Se alimenta de invertebrados acuáticos, incluyendo: crustáceos (*Artemia* sp.), copépodos (*Boeckella*), ostrácodos y anfípodos. También puede ingerir larvas y pupas de Dípteros y moluscos (caracoles). Generalmente, se alimenta en la interfase agua/sedimento, casi siempre con parte del cuello sumergido. Ocasionalmente, los grupos pueden nadar para filtrar cladóceros planctónicos directamente de la superficie del agua (del Hoyo 1992).

- Ambiente terrestre: lechucita de las vizcacheras *Athene cunicularia*, carancho *Caracara plancus*, chimango *Milvago chimango*, cotorra común *Myiopsitta monachus* y torcaza *Zenaida auriculata*.

Dentro de la familia Strigidae (lechuzas) pueden encontrarse ciertos aspectos generales como una cabeza grande y disco facial redondeado, una cola relativamente corta y plumajes crípticos donde predominan los colores pardos y grises. Utilizan el vuelo como forma de locomoción principal durante el forrajeo y se alimentan de una amplia variedad de vertebrados e invertebrados. Generalmente son de hábitos nocturnos y durante el día suelen estar perchadas en sitios con abundante follaje o incluso dentro de cuevas. Las lechucitas de las vizcacheras suelen encontrarse fuera de sus madrigueras durante el día y, contrariamente a lo que se suponía sobre sus hábitos diurnos, las especies del género *Athene* se consideran cazadores nocturnos. La lechucita de las vizcacheras (*Athene cunicularia*) tiene una amplia distribución en el continente americano, desde el sur de Canadá hasta Tierra del Fuego en Argentina. Es típica de ambientes abiertos y secos como planicies, praderas, sabanas y desiertos, también se la puede encontrar habitando muy cerca del hombre como en márgenes de rutas, aeropuertos y lotes vacantes en áreas residenciales. Se alimenta principalmente de artrópodos y pequeños mamíferos, tiene hábitos crepusculares y su estrategia de caza es variada; pueden cazar caminando, saltando o realizando carreras a lo largo del suelo. También cazan al vuelo desde una percha, “halconeando” sobre vegetación alta e incluso atrapando a su presa directamente en el aire (Marks et al. 1999).

El carancho (*Polyborus plancus*) y el chimango (*Milvago chimango*) pertenecen a la familia Falconidae, subfamilia Polyborinae (White et al. 1994). El carancho tiene una amplia distribución que se extiende desde el sur de Estados Unidos hasta Tierra del Fuego e Islas Malvinas. Se encuentra asociado a ambientes semiabiertos como pasturas, sabanas y márgenes de ríos; a veces también se lo encuentra en áreas boscosas. En cuanto a sus hábitos alimenticios, es un ave oportunista (Bierregaard 1994). Se alimenta principalmente de carroña, animales muertos en la ruta o peces muertos y/o moribundos. También puede consumir presas vivas como tortugas de agua dulce, iguanas, geckos, serpientes, cangrejos. Suele preñar nidos de pequeñas aves, colonias de garzas y espátulas e incluso nidos de otros caracarinos (*Milvago*). Pasa mucho tiempo sobre el suelo pero también se lo ha visto vadeando en aguas poco profundas, probablemente buscando anuros. Es común que robe el alimento a otros *Caracara* y aves rapaces de otras especies (Bierregaard 1994).

La distribución geográfica del chimango abarca norte y centro de Chile, Paraguay, Uruguay, sur de Brasil y Argentina. Habita toda clase de ambientes abiertos; también suele encontrarse a lo largo de la costa. Al igual que el carancho, se alimenta tanto de carroña como de presas vivas, incluyendo insectos, anuros, huevos y pichones de passerinos. También puede ser un importante predador de pichones de gaviota capucho café (*Chroicocephalus maculipennis*) y de tero (*Vanellus chilensis*) (Bierregaard 1994).

La familia Psittacidae posee especies que son muy variables en cuanto a su tamaño, forma y coloración, sin embargo, comparten ciertas características en común como la forma del pico, la presencia de una cera carnosa y la zigodatilia. Los loros se distribuyen a lo largo de los trópicos y sub-trópicos pero algunos pueden alcanzar latitudes más altas. La mayoría de los loros habita bosques y, por lo tanto, son muy o exclusivamente arborícolas, salvo algunas excepciones. Dentro de los ecosistemas arbóreos, las zonas más húmedas son las que contienen mayor cantidad de especies pero también es posible encontrarlos en zonas más áridas. La mayoría de las especies son gregarias y, generalmente se alimentan de frutas, semillas, florescencias, hojas, nueces, etc. (Juniper & Parr 2010). La cotorra común se distribuye desde el centro de Bolivia y sur de Brasil hasta el centro de Argentina, habita zonas abiertas incluyendo cultivos y pasturas y se alimenta generalmente en el suelo (Forshaw 2010).

Dentro de la familia Columbidae se reconocen 5 subfamilias, aquellas consideradas “palomas típicas” están caracterizadas por tener un plumaje gris o pardo y comedoras

de semillas. La distribución de la familia es cosmopolita, excepto en las regiones Ártica y Antártica. Ocupan una gran variedad de ambientes, desde bosques a zonas abiertas. Una característica llamativa es que varias especies dentro de esta familia carecen de glándula uropigia; las que la tienen parecen no utilizarla para el mantenimiento del plumaje, como ocurre en otras aves. Junto con loros y garzas, las palomas poseen polvo-plumas que reemplazarían en su función a la cera de la glándula uropigia. La torcaza (*Zenaida auriculata*) se distribuye por todo Sudamérica, en ambientes áridos o semiáridos. Habita campos cultivados y pasturas; también es muy común en grandes ciudades. Se alimenta principalmente de semillas de cultivo (sorgo, trigo, mijo) y también de semillas de plantas silvestres (Baptista et al. 1997).

De cada especie se utilizaron 2 o 3 ejemplares adultos de ambos sexos, las especies antárticas se capturaron en la Isla Laurie (60°44'S, 44°37'W), Orcadas del Sur y Bahía Esperanza (63°24'S, 57°0'W), Península Antártica, durante el verano austral. Para realizar las capturas se contó con un permiso otorgado al Dr. D. Montalti por el Programa de Manejo Ambiental y Turismo (Instituto Antártico Argentino, Ministerio de Relaciones Exteriores, Comercio Internacional y Culto). Las glándulas correspondientes a las especies antárticas que se utilizaron en este trabajo formaban parte de una colección que se encontraba en el Instituto Antártico Argentino.

Los biguáes provienen del partido de Berazategui, provincia de Buenos Aires (permiso nro. 13417/11, Ministerio de Asuntos Agrarios de la provincia de Buenos Aires), los flamencos se encontraron muertos en buen estado de conservación en la localidad de Carhué, Partido de Adolfo Alsina, provincia de Buenos Aires y los macáes fueron donados a la Colección de Ornitología del Museo de La Plata por el Proyecto Macá Tobiano (Aves Argentinas).

Las aves terrestres fueron capturadas en diversas localidades de la provincia de Buenos Aires con el permiso nro. 265/09 (Ministerio de Asuntos Agrarios de la provincia de Buenos Aires).

Para cada individuo se registró su masa corporal (MC) utilizando balanzas de resorte o dinamómetros de diferente precisión según la masa corporal de la especie en estudio. La glándula uropigia se ablacionó mediante el protocolo de Montalti et al. (1998), se extrajeron de forma manual las plumas que rodean externamente a la glándula uropigia y se realizó una incisión superficial en la piel rodeando la glándula y cortando

vasos y nervios para remover completamente el órgano. Las glándulas se pesaron (MG) utilizando una balanza analítica (precisión $\pm 0,001$ g). Estos valores se utilizaron para calcular la masa glandular relativa a la masa corporal (MGR): $MG/MC*100$. A los datos obtenidos de los ejemplares utilizados para cada especie se sumaron datos de MC y MG con los que se contaba previamente en la Sección Ornitología del Museo de La Plata.

Se obtuvieron las plumas del pincel mediante extracción manual, se contaron y se tomaron distintas medidas (largo total, largo del raquis y largo del cálamo); algunas se montaron en portaobjetos con Bálsamo de Canadá y cubreobjetos para su preservación y toma de fotografías.

En el Apéndice I figura el n utilizado en cada especie para la MGR, las plumas del pincel y los análisis histológicos, histoquímicos y de la secreción uropigial.

Técnicas histológicas

Para cada especie se utilizaron dos o tres glándulas (Apéndice I) que se fijaron en formol bufferado al 10% y se procesaron para su inclusión en parafina.

Se realizaron cortes transversales y longitudinales de 3 μ m y se colorearon con distintas técnicas de rutina que incluyeron: hematoxilina y eosina para descripciones histológicas generales de la glándula, orceína para fibras elásticas, tricrómico de Gomori y Mallory para fibras colágenas y musculares y reticulina de Gomori para determinar la presencia de fibras reticulares. Otros cortes se procesaron con técnicas histoquímicas (Apéndice II) como PAS, PAS-Diastasa para determinar la presencia de glicoproteínas (GPs) con dióles vecinos oxidables, Azul alcian (AA) pH 0.5 para determinar glicoconjugados sulfatados, pH 1 para determinar la presencia de GPs con grupos O-sulfatados y pH 2,5 para GPs con grupos carboxilos y/o con ésteres sulfatos. Como control positivo se usaron cortes de intestino. La intensidad de coloración se estableció mediante un gradiente semicuantitativo: (-) reacción negativa, (+) reacción débil, (++) reacción moderada y (+++) reacción fuerte.

De las glándulas congeladas se obtuvieron cortes por congelación y se colorearon con Sudán IV para la detección de lípidos.

Lectinhistoquímica

Secciones de parafina se desparafinizaron y se incubaron con 0.03% H₂O₂ en metanol durante 30 minutos para inhibir la peroxidasa endógena. Luego, se trataron con albumina bovina al 0.1% en PBS durante 30 minutos y se incubaron con lectinas biotiniladas (Apéndice III) por 2 horas a temperatura ambiente. Los cortes se lavaron por separado y se incubaron con el complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC) (Vector Laboratories, Burlingame, CA); se utilizó diaminobenzidina (DAB) 0.02% (Biogenes, San Ramón, CA) como cromógeno. La intensidad de coloración se estableció mediante un gradiente semicuantitativo: (-) reacción negativa, (+) reacción débil, (++) reacción moderada y (+++) reacción fuerte.

Los controles negativos utilizados para la técnica de lescinohistoquímica fueron expuestos a la acción de la peroxidasa y a un medio sin las lectinas; también se los bloqueó mediante incubación con los azúcares correspondientes (0.1 a 0.2 M en PBS).

Técnicas inmunohistoquímicas

Secciones de 3 µm se montaron en portaobjetos positivados (Biotraza microscope slides, Cat. #HDAS001A, Huida Medical Instruments CO., Jiangsu, China), luego se desparafinizaron, deshidrataron y se incubaron con 3% H₂O₂ en metanol por 30 minutos a temperatura ambiente, y se lavaron con PBS (pH 7.4). Se realizó una recuperación antigénica utilizando 750 W de radiación por microondas dos veces durante 5 minutos en citrato bufferado (pH 6). Los sitios de unión no específicos se bloquearon mediante BSA 2% durante 30 minutos en una cámara húmeda a 4°C, seguido por la incubación con el anticuerpo primario durante 1 hora a 37°C. El anticuerpo monoclonal murino anti-PCNA se utilizó como anticuerpo primario (clone PC 10, ascites fluis, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE.UU, dilución 1/3000) para la determinación de proliferación celular, se usó desmina para la caracterización de fibras musculares y también se utilizó el anticuerpo antipancitoqueratina (CK) para la determinación de células epiteliales. DAB se utilizó como cromógeno (Dako Cytomation, Glostrup, Dinamarca).

Análisis de la composición química de la secreción

Se eligieron dos especies de éste trabajo para analizar el perfil de ácidos grasos de la secreción uropigial. Se tomó al flamenco austral como representante del ambiente acuático y a la lechucita de las vizcacheras como representante del ambiente terrestre. El Jardín Zoológico y Botánico de La Plata proveyó ejemplares de flamenco austral

para este análisis y las lechucitas de las vizcacheras corresponden a ejemplares capturados según permisos indicados en párrafos superiores.

Las muestras de 6 ejemplares de flamencos se obtuvieron *in vivo* mediante un masaje manual de la glándula uropigia y con posterior presión para tomar la secreción que se conservó en envases de vidrio con metanol con BHT (Butilhidroxitolueno) 0.01% en una atmósfera saturada de nitrógeno a -70°C para evitar la oxidación de los lípidos hasta su procesamiento. Las muestras de la secreción uropigial de 4 lechucitas de las vizcacheras se obtuvieron a partir de ejemplares capturados muertos; la secreción se obtuvo exprimiendo manualmente las glándulas y conservándolas como se hizo con las muestras de flamencos.

Extracción total de lípidos

Para extraer los lípidos totales, se evaporó el metanol de las muestras usando corriente de nitrógeno y calentamiento (40°C) hasta tener 1 ml de líquido aproximadamente. Por cada ml de metanol en las muestras, se adicionó 1 ml de cloroformo; primero se agregaron 0,5 ml y se agitó manualmente y en vortex durante un minuto. Se realizó el mismo procedimiento con los 0,5 ml restantes.

Después de tener las muestras en la mezcla metanol/cloroformo 1:1, se agregaron 0.9 ml de NaCl 1.8% que se agitaron por inversión suavemente para que no se forme una emulsión muy difícil de romper. Luego, las muestras se centrifugaron a velocidad media durante 10 minutos para ayudar a la separación de las fases.

Una vez obtenidas dos fases, se procedió a descartar la superior, la fase inferior se trasvasó a un vial (previamente tarado) y se evaporó mediante corriente de nitrógeno sobre una placa de calentamiento a 40°C. Una vez eliminado todo el solvente de las muestras se resuspendieron los lípidos en hexano de buena calidad (Bligh 1959).

Perfil de lípidos de la secreción uropigial

Las muestras de lípidos totales se analizaron por cromatografía de capa fina (TLC Silica Gel 60 Merck) de doble desarrollo usando hexano hasta $\frac{3}{4}$ de la placa y luego una mezcla hexano, éter etílico y ácido acético en proporción 80:20:1 hasta completar la placa.

Se sembraron 45 µg de lípidos de cada muestra y, como referencia, una mezcla de estándares compuesta por hidrocarburos, triglicéridos, ceras y alcoholes grasos. La

placa fue revelada por carbonización, rociándola con una solución al 10% de CuSO_4 en H_2PO_4 al 8% y colocándola posteriormente en una estufa a 150°C .

Purificación de ceras

Se purificaron las ceras de las muestras de secreción uropigial de flamencos mediante cromatografía en columna utilizando sílica (MN-Silica Gel G, Macherey Nagel) como fase estacionaria.

Se separó una primera fracción de hidrocarburos utilizando hexano; la fracción de ceras fue eluída con una mezcla de hexano y éter etílico en proporción 92:8. La pureza de esta última fracción fue verificada mediante TLC.

Obtención de ácidos grasos y alcoholes grasos de las muestras de ceras

Se obtuvieron los ésteres metílicos de los ácidos grasos (EMAG) y los alcoholes grasos de las muestras mediante saponificación, purificación por TLC y esterificación con trifluoruro de boro en el caso de los primeros.

Una alícuota de cada muestra de ceras se saponificó con KOH en etanol al 10% durante 1 hora a 80°C . Luego de que se enfriaran las muestras, se acidificaron con HCl concentrado. La fase superior resultante (lípidos insaponificables) se descartó y la fase inferior (saponificable) se sembró en una placa de TLC. La cromatografía se desarrolló con una mezcla de solventes constituida por hexano, éter etílico y ácido acético en proporción 80:20:1. Los alcoholes y los ácidos grasos separados mediante esta técnica se extrajeron de la placa mediante raspado y se extrajeron de la sílica con dos lavados de cloroformo y metanol en proporción 2:1. La muestra de alcoholes grasos quedó lista para su inyección en el cromatógrafo mientras que para la muestra de ácidos grasos fue necesario incluir un paso de derivatización. En este caso se obtuvieron los EMAG mediante transesterificación de los ácidos grasos con trifluoruro de boro en metanol al 10% a 64°C durante 1 hora.

Análisis de la composición de ácidos grasos y alcoholes grasos mediante espectrometría de masas

Las muestras de EMAG y alcoholes grasos se analizaron mediante cromatografía gaseosa capilar-espectrometría de masas (GC-MS) en un cromatógrafo HP 6890 acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5975C VL. Las condiciones del GC fueron: columna no polar ZB-5HT Inferno de 30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 μm film; gas portador helio a 2.0 ml/min de flujo constante; programa de temperatura de 110°C de

temperatura inicial (durante 0 minuto) luego a 10°/min y hasta una temperatura final de 310°C (mantenida durante 10 min); el inyector fue operado en modo split a 250°C. Las condiciones del detector MS fueron: energía de ionización 70 eV; rango de masas analizado 35-650 uma; línea de transferencia a 310°C; la cámara de ionización a 230°C y el cuadrupolo a 150°C. El sistema fue operado y los datos colectados desde un MSD ChemStation Agilent Technologies Inc.

Para la identificación de los compuestos de las muestras, los perfiles obtenidos se analizaron utilizando la biblioteca de espectros NIST05.

Análisis de los datos

Se obtuvo la media de la masa glandular relativa a la masa corporal y la cantidad y distintas medidas de las plumas del pincel, analizando por especie, utilizando estadística descriptiva y estadística inferencial (comparación de medias).

Para la comparación de los resultados se utilizaron Análisis de Varianza (ANOVA) y el Test de t, considerando valores de $p \leq 0,05$ como significativos y $p \leq 0,01$ como muy significativos. También se utilizaron otros métodos estadísticos como regresión y correlación (Sokal & Rohlf 1995) comparando a las aves según su ambiente.

Todos estos análisis se realizaron con el programa estadístico STATISTICA 7.0. La información y el análisis de los datos se interpretaron poniendo en consideración las características ecológicas de cada especie y el ambiente donde habitan, entre otras variables.

Capítulo III

Resultados

Tamaño relativo de la glándula uropigia
y plumas del pincel



Tamaño glandular relativo

Aves marinas:

En la Tabla 1 se detallan los valores de masa corporal, masa glandular absoluta y masa glandular relativa al cuerpo de las distintas especies de aves marinas analizadas.

Los mayores valores de masas glandulares absolutas correspondieron a los pingüinos Adelia (*Pygoscelis adeliae*) y papúa (*P. papua*) y los menores a los petreles de las tormentas (*Oceanites oceanicus* y *Fregetta tropica*); los skúas pardo (*Stercorarius antarcticus lonnbergi*) y polar del Sur (*S. maccormicki*) presentaron valores intermedios (Figura 9).

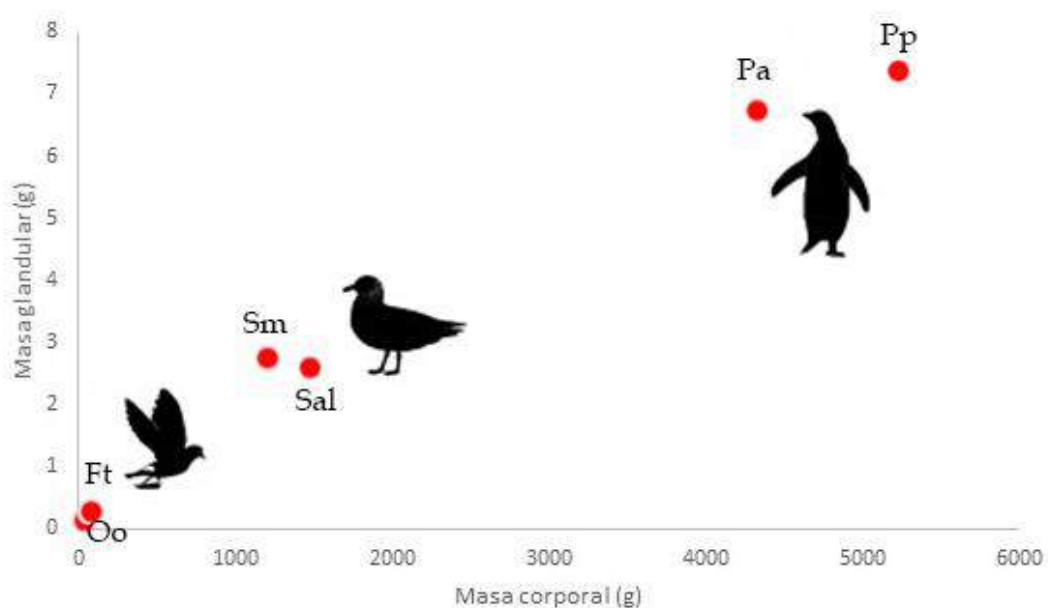


Figura 9: Relación entre la masa glandular absoluta y la masa corporal absoluta en las distintas especies de aves marinas. Los valores corresponden a la media de ambas medidas. Pa: *Pygoscelis adeliae*, Pp: *P. papua*, Ft: *Fregetta tropica*, Oo: *Oceanites oceanicus*, Sal: *Stercorarius antarcticus lonnbergi* y Sm: *S. maccormicki*.

En cuanto a la masa glandular relativa a la masa corporal, los mayores valores se encontraron en los petreles de las tormentas, seguidos por los skuás con valores intermedios y por último los pingüinos con los porcentajes más bajos (Figura 10). Para

poder realizar el análisis estadístico se unificaron ambas especies de pingüinos, petreles de las tormentas y skúas, dado que los valores de los individuos de las distintas especies de cada grupo eran similares. Utilizando los análisis de regresión y correlación se pudo determinar que hay una correlación negativa ($r -0.80203$) entre el tamaño glandular relativo y la masa corporal; a medida que aumenta la masa corporal, disminuye el tamaño glandular relativo (Figura 10).

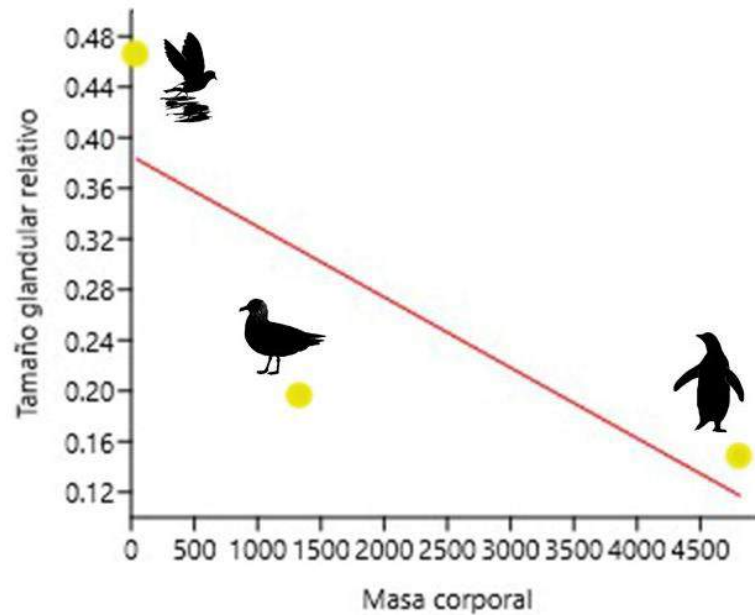


Figura 10: Regresión lineal entre el tamaño glandular relativo y la masa corporal en especies acuáticas marinas. El valor del coeficiente de correlación fue: $r -0.80203$ y $p 0.40751$.

Tabla 1: Valores de masas corporal (MC) y glandular (MG) y tamaño glandular relativo (MG/MC*100) de los pingüinos de Adelia y papúa, petreles de Wilson y de vientre negro y skúas pardo y polar del Sur. Los valores se expresan en g y se muestra la media \pm el desvío estándar y valores máximo (Máx.) y mínimo (Mín.) y n.

Especie	MC	MG	MG/MC*100
<i>Pygoscelis adeliae</i>	4430,7 \pm 312,68	6,75 \pm 1,049	0,15 \pm 0,0258
	4900	8,45	0,2
	3900	4,8	0,11
	10	10	10
<i>P. papua</i>	5232,11 \pm 840,49	7,37 \pm 1,69	0,14 \pm 0,025
	6450	9,7	0,19
	4150	5	0,11
	9	9	9
<i>Oceanites oceanicus</i>	36,257 \pm 2,507	0,156 \pm 0,148	0,43 \pm 0,048
	42	0,18	0,5
	32,72	0,14	0,35
	9	9	9
<i>Fregatta tropica</i>	55,75 \pm 4,57	0,28 \pm 0,04	0,49 \pm 0,05
	61	0,35	0,57
	50	0,23	0,42
	9	9	9
<i>Stercorarius antarcticus lonnbergi</i>	1476,44 \pm 99,398	2,598 \pm 0,51	0,172 \pm 0,03
	1555	3,3	0,22
	1255	1,85	0,14
	9	9	9
<i>Stercorarius maccormicki</i>	1206,67 \pm 128,82	2,76 \pm 0,57	0,225 \pm 0,040
	1350	3,44	0,28
	1000	2,04	0,14
	9	9	9

Aves cuerpos de agua continentales:

Los valores de masas corporal, glandular y masa glandular relativa a la masa corporal se detallan en la Tabla 2.

La masa glandular absoluta de mayor valor correspondió a los flamencos (*Phoenicopterus chilensis*), seguido por valores intermedios en el biguá (*Phalacrocorax brasilianus*) y los valores más bajos en el macá tobiano (*Podiceps gallardoi*) (Figura 11).

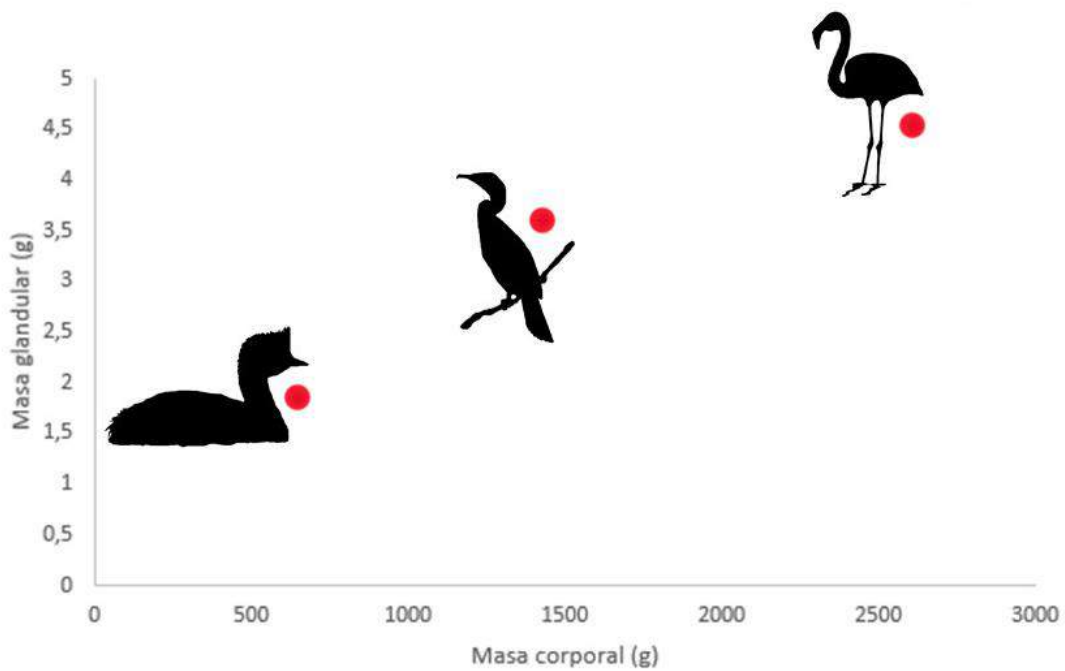


Figura 11: Relación entre la masa glandular absoluta y la masa corporal en aves acuáticas de cuerpos de agua continentales. Los valores corresponden a las medias de ambas medidas.

El mayor valor de tamaño glandular relativo le corresponde al macá tobiano, el biguá obtuvo un valor intermedio y el más bajo fue el del flamenco austral. Comparando las masas corporales con los tamaños glandulares relativos entre especies mediante regresión y correlación se determinó que existe una correlación negativa entre ambos valores, el tamaño glandular relativo disminuye a medida que aumenta la masa corporal ($r -0.99597$) (Figura 12).

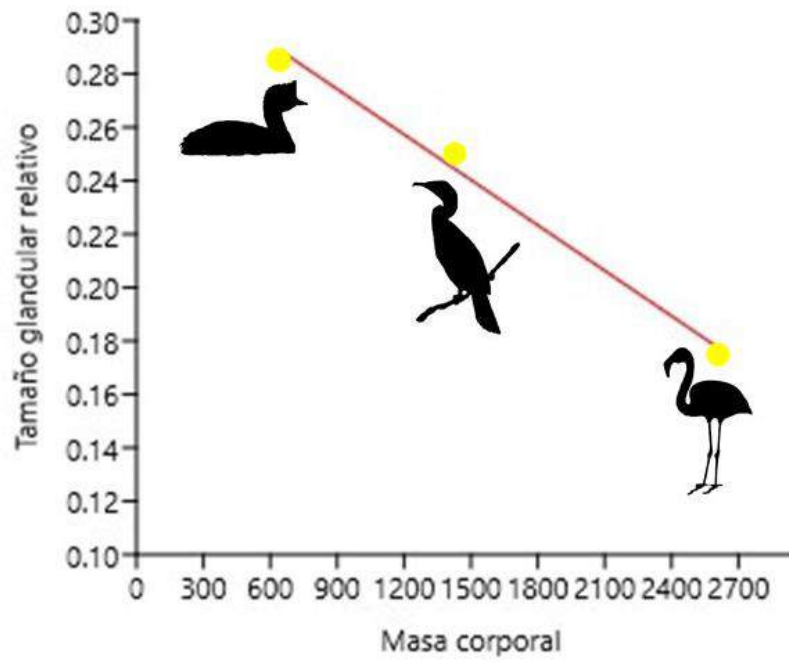


Figura 12: Regresión lineal entre el tamaño glandular relativo y la masa corporal en especies de cuerpos de agua continentales. El valor del coeficiente de correlación fue: $r -0.99597$ y $p 0.057141$.

Tabla 2: Valores de masas corporal (MC) y glandular (MG) y tamaño glandular relativo (MG/MC*100) del macá tobiano, biguá y flamenco austral. Los valores se expresan en g y se muestra la media \pm el desvío estándar y valores máximo (Máx.) y mínimo (Mín.).

Espece	MC	MG	MG/MC*100
<i>Podiceps gallardoi</i>	650 \pm 33,66	1,85 \pm 0,45	0,285 \pm 0,07
	690	2,34	0,36
	610	1,33	0,19
	4	4	4
<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	1431,2 \pm 301,15	3,6 \pm 0,748	0,25 \pm 0,05
	1745	4,298	0,32
	1010	2,783	0,18
	5	5	5
<i>Phoenicopterus chilensis</i>	2612,57 \pm 455,90	4,54 \pm 1,15	0,175 \pm 0,028
	3264	6,06	0,22
	1825	2,823	0,15
	7	7	7

Aves terrestres:

Los valores de masa corporal, masa glandular y masa glandular relativa al cuerpo de las especies de aves terrestres se muestran en la Tabla 3.

En este grupo se encontraron las mayores masas glandulares absolutas en el carancho (*Caracara plancus*) y chimango (*Milvago chimango*). El valor intermedio corresponde a la masa glandular absoluta de la lechucita de las vizcacheras (*Athene cunicularia*) y los valores más bajos se determinaron para la cotorra común (*Myiopsitta monachus*) y la torcaza (*Zenaida auriculata*) (Figura 13).

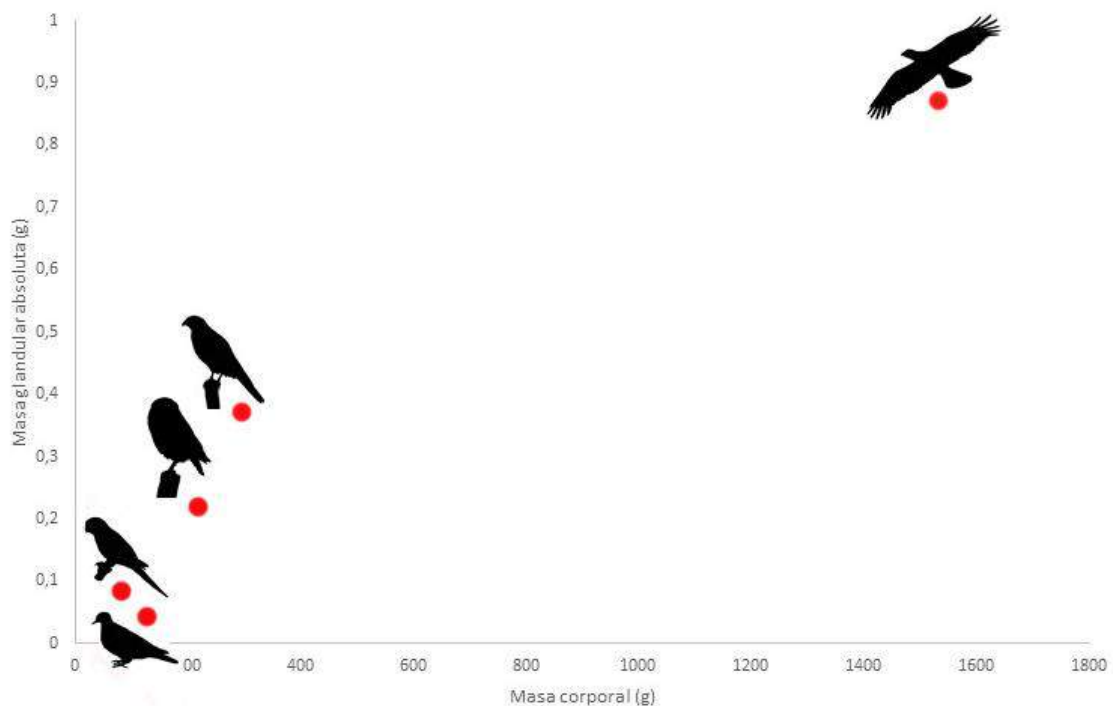


Figura 13: Relación entre la masa glandular absoluta y la masa corporal en las distintas especies de aves terrestres. Los valores corresponden a las medias de ambas medidas.

Comparando las medias de la masa corporal y la masa glandular relativa a la masa corporal en las distintas especies de aves terrestres se observó que hay una tendencia a una correlación negativa entre ambos parámetros ($r: -0.2876$) (Figura 14); el carancho (el ave terrestre con mayor masa corporal dentro de las estudiadas) tiene un bajo valor de tamaño glandular relativo en comparación con las otras especies de aves terrestres analizadas. Sin embargo, se observa que hay especies con baja masa corporal y bajo valor de tamaño glandular relativo, como en el caso de la cotorra común y la torcaza.

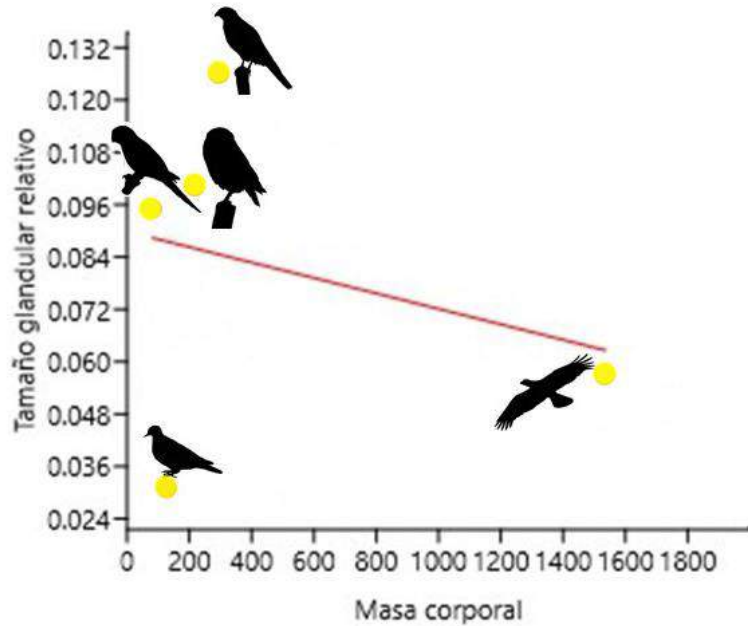


Figura 14: Regresión lineal entre el tamaño glandular relativo y la masa corporal en especies de aves terrestres. El valor del coeficiente de correlación fue: $r -0.2876$ y $p 0.63892$.

Tabla 3: Valores de masas corporal (MC) y glandular (MG) y tamaño glandular relativo (MG/MC*100) del chimango, carancho, lechucita de las vizcacheras, cotorra común y torcaza. Los valores se expresan en g y se muestra la media \pm el desvío estándar y valores máximo (Máx.) y mínimo (Mín.).

Especie	MC	MG	MG/MC*100
<i>Milvago chimango</i>	297,95 \pm 9,95 315 284,9 9	0,373 \pm 0,067 0,48 0,31 9	0,126 \pm 0,03 0,18 0,1 9
<i>Caracara plancus</i>	1535 \pm 206,008 1790 1353 5	0,87 \pm 0,26 1,28 0,61 5	0,057 \pm 0,02 0,09 0,034 5
<i>Athene cunicularia</i>	219,17 \pm 39,96 293 176,91 9	0,217 \pm 0,042 0,28 0,14 9	0,1 \pm 0,024 0,14 0,06 9
<i>Myiopsitta monachus</i>	83,36 \pm 16,66 113 60,602 9	0,084 \pm 0,041 0,15 0,034 9	0,095 \pm 0,039 0,18 0,05 9
<i>Zenaida auriculata</i>	129,82 \pm 13,05 146,04 107,9 8	0,041 \pm 0,039 0,136 0,016 8	0,031 \pm 0,0288 0,1 0,015 8

Comparando los valores de la masa glandular relativa a la masa corporal, y separando a las especies por ambiente, se encontró que las aves acuáticas poseen un mayor tamaño glandular relativo que las terrestres (Tabla 4), siendo esta diferencia altamente significativa ($p=0,01$). Las diferencias del tamaño glandular relativo entre aves acuáticas marinas y de cuerpos de agua continentales no fueron significativas ($p=0,758$) (Tabla 5).

Tabla 4: Test t para comparar el tamaño glandular relativo entre especies de ambientes acuático y terrestre.

Ambiente	N	Media	t (p)
Acuático	9	0,249	3,0674 (0,01)
Terrestre	5	0,082	

Tabla 5: Test t para comparar el tamaño glandular relativo entre especies de distintos ambientes acuáticos.

Ambiente	N	Media	t (p)
Acuático marino	3	0,27	0,328 (0,758)
Cuerpos de agua cont.	3	0,23	

Plumas del pincel

La cantidad y el tipo de plumas del pincel para cada especie se detallan en la Tabla 6. Todas las aves acuáticas presentaron un pincel de plumas desarrollado; en el caso de las aves terrestres, dos especies presentaron “glándulas desnudas” (ausencia de pincel de plumas”), éstas son la lechucita de las vizcacheras y la torcaza.

La mayoría de las especies analizadas presentaron plumas de pincel tipo I (estructura semejante a un plumón) (Tabla 6) (Figs. 15-20), excepto ambas especies de pingüinos que presentaron plumas con una estructura similar a una semipluma (Fig. 21), este tipo posee un raquis y surgen barbas a lo largo de toda esta estructura.

Tabla 6: Cantidad y tipo de plumas del pincel de las especies estudiadas. Los valores se muestran como media \pm desvío estándar.

Especie	n	Cantidad de plumas	Tipo
<i>Pygoscelis adeliae</i>	6	32,1 \pm 3	II
<i>Pygoscelis papua</i>	3	31,3 \pm 2.3	II
<i>Oceanites oceanicus</i>	4	14,25 \pm 2.87	I
<i>Fregetta tropica</i>	4	15,57 \pm 0.5	I
<i>S. a. lonnbergi</i>	3	35,67 \pm 1.53	I
<i>S. maccormicki</i>	3	30 \pm 3	I
<i>Phoenicopterus chilensis</i>	3	32,67 \pm 4.62	I
<i>Podiceps gallardoi</i>	4	12,5 \pm 1	I
<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	2	72,25 \pm 6.07	I
<i>Caracara plancus</i>	3	21	I
<i>Milvago chimango</i>	10	19,8 \pm 3.12	I
<i>Myiopsitta monachus</i>	7	6,14 \pm 1,09	I

Las aves acuáticas, tanto marinas como de cuerpos de aguas continentales, presentan una mayor cantidad de plumas del pincel que las aves terrestres, siendo esta diferencia significativa ($p=0,032$) (Tabla 7). Comparando la cantidad de plumas entre aves acuáticas marinas y de cuerpos de agua continentales no se encontraron diferencias significativas ($p=0,35$) (Tabla 8).

Tabla 7: Test t para comparar la cantidad de plumas del pincel entre aves acuáticas y terrestres.

Ambiente	N	Media	t (p)
Acuático	9	30,7	2,4092 (0,032)
Terrestre	5	9,38	

Tabla 8: Test t comparando la cantidad de plumas del pincel entre aves acuáticas.

Ambiente	N	Media	t (p)
Marino	6	26,48	-0,994 (0,35)
Aguas continentales	3	39,14	

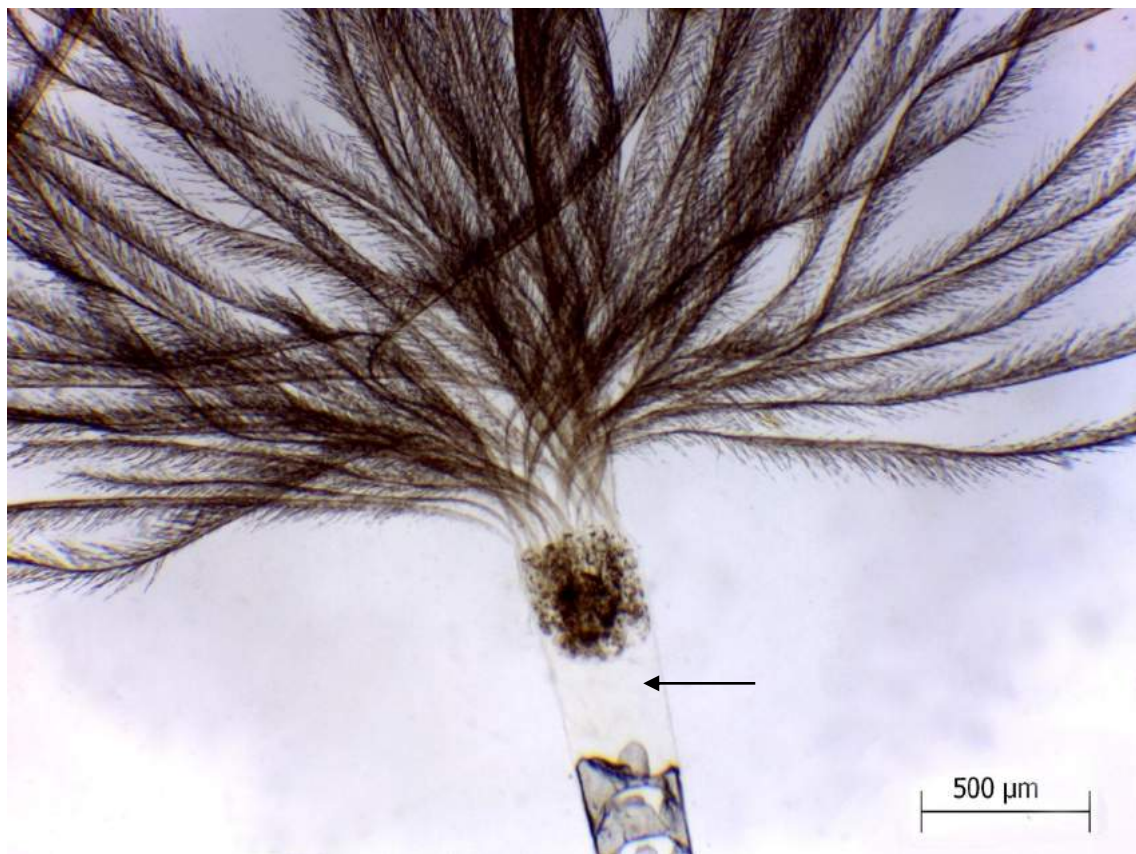


Figura 15: Detalle de una pluma (Tipo I) del pincel del petrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*). La flecha señala el cálamo desde donde se observa que surgen todas las barbas.



Figura 16: Detalle de una pluma (Tipo I) del pincel del skúa polar de Sur (*Stercorarius maccormicki*). La flecha indica el origen de las barbas a partir del cálamo.



Figura 17: Detalle de una pluma (Tipo I) del pincel del macá tobiano (*Podiceps gallardoi*). La flecha señala el cálamo.

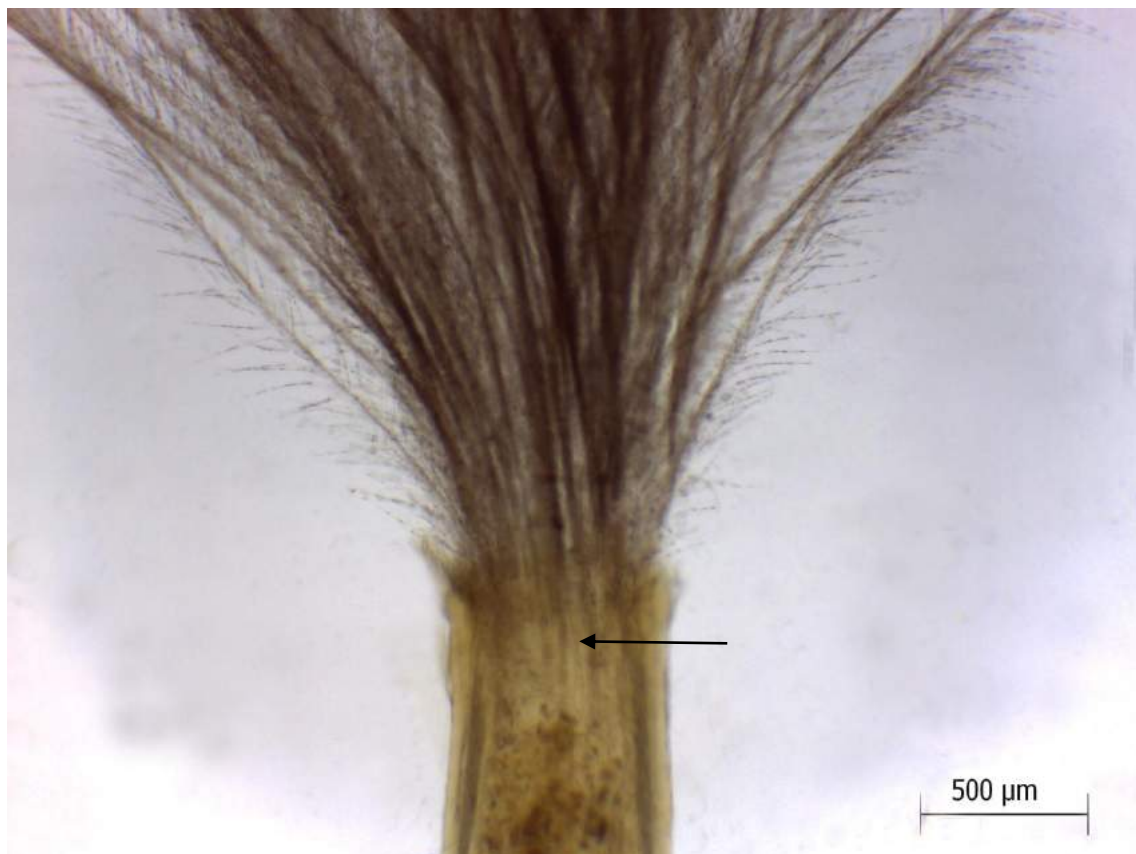


Figura 18: Detalle de una pluma (Tipo I) del pincel del flamenco austral (*Phoenicopterus chilensis*). La flecha señala el origen de las barbas a partir del cálamo.

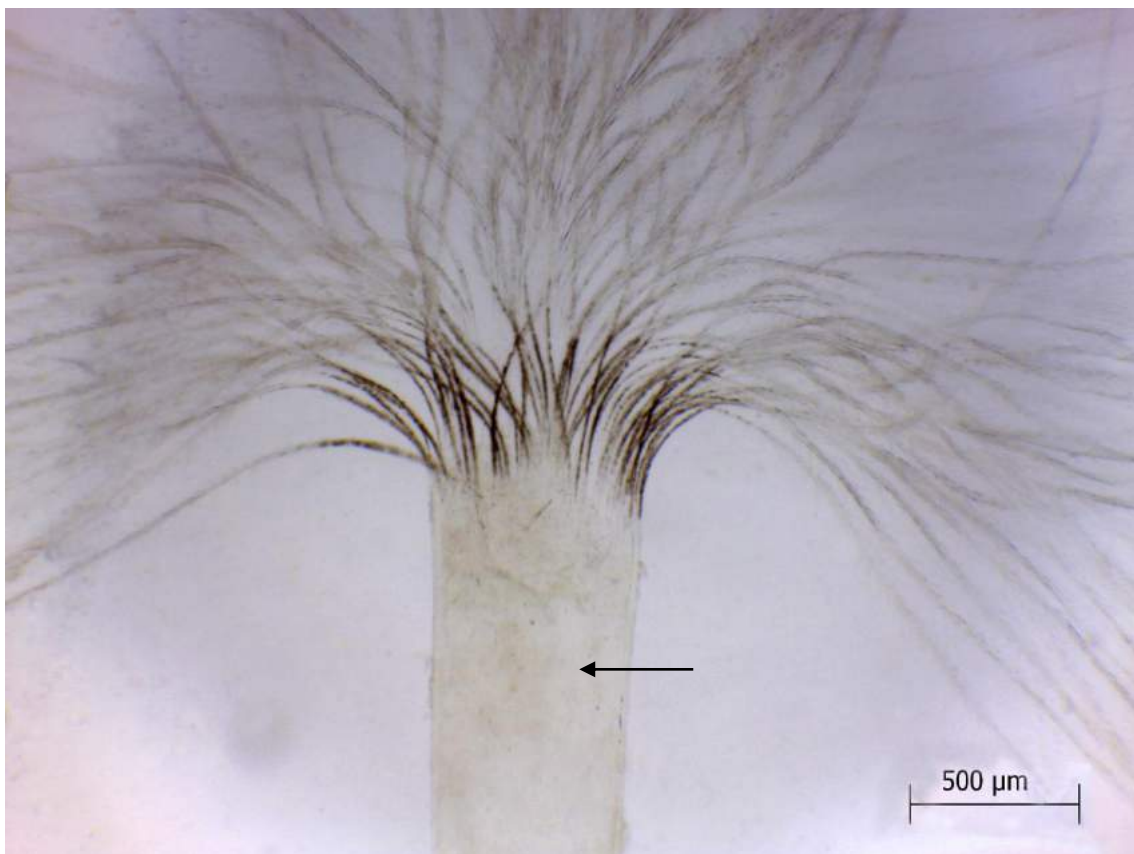


Figura 19: Detalle de una pluma (Tipo I) del pincel del carancho (*Caracara plancus*). La flecha señala el cálamo y se observa que las barbas surgen a partir de esta estructura.

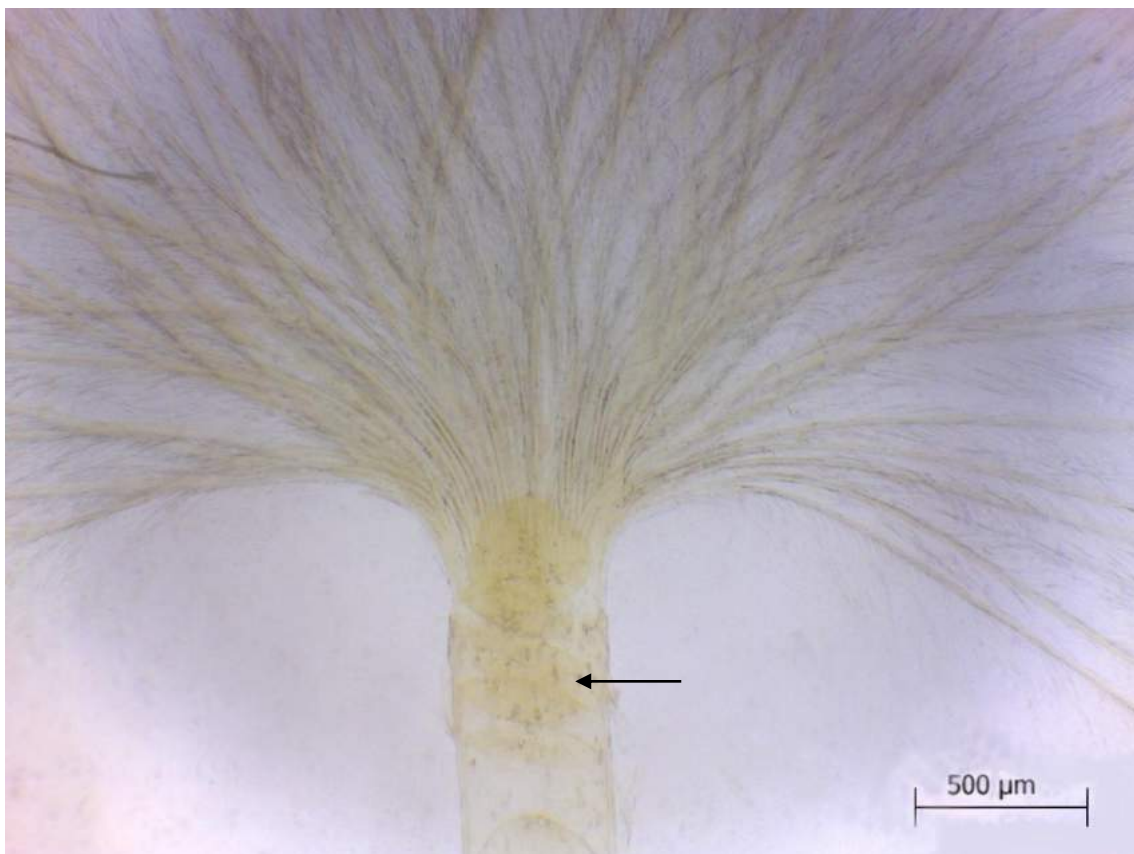


Figura 20: Detalle de una pluma (Tipo I) del pincel de la cotorra común (*Myiopsitta monachus*). La flecha señala el cálamo.



Figura 21: Pluma del pincel (Tipo II) del pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*). Escala 10mm.

Capítulo IV

Aspectos histológicos generales e histología
de la glándula uropigia de aves marinas



RESULTADOS

Aspectos histológicos generales de la glándula uropigia

La glándula uropigia de todas las aves analizadas en este trabajo, está rodeada por una cápsula de tejido conectivo denso y formada por dos lóbulos y una papila en el extremo caudal, con un pincel de plumas rodeando los poros excretores, excepto en las especies *Athene cunicularia* y *Zenaida auriculata* que poseen glándulas desnudas. En todas las especies estudiadas los lóbulos están separados por un tabique de tejido conectivo denso que nace a partir de la cápsula en la región proximal de los lóbulos y se dirige hacia la papila.

Los lóbulos están compuestos por adenómeros tubulares ramificados con un epitelio estratificado, en éste se identifican 4 estratos, que desde la periferia hacia el lumen son: 1) estrato basal (donde se produce la división celular); 2) estrato intermedio (con células poligonales y núcleos redondeados); 3) estrato secretorio (células grandes con vacuolas secretoras); y 4) estrato degenerativo (células con núcleos picnóticos, que se rompen liberando su contenido hacia la luz tubular). Existen tres zonas desde la periferia hacia el centro de los adenómeros, que se definen según la altura del epitelio y la amplitud del lumen. La zona I se caracteriza por un epitelio muy alto y un lumen muy pequeño, la zona II posee un epitelio de menor altura y una luz más amplia, en tanto la zona III posee un epitelio bajo y una luz tubular muy amplia. A partir de esta última zona los adenómeros confluyen para formar cámaras secundarias que luego se reúnen para formar, eventualmente, una única cámara primaria de almacenamiento (Fig. 22).

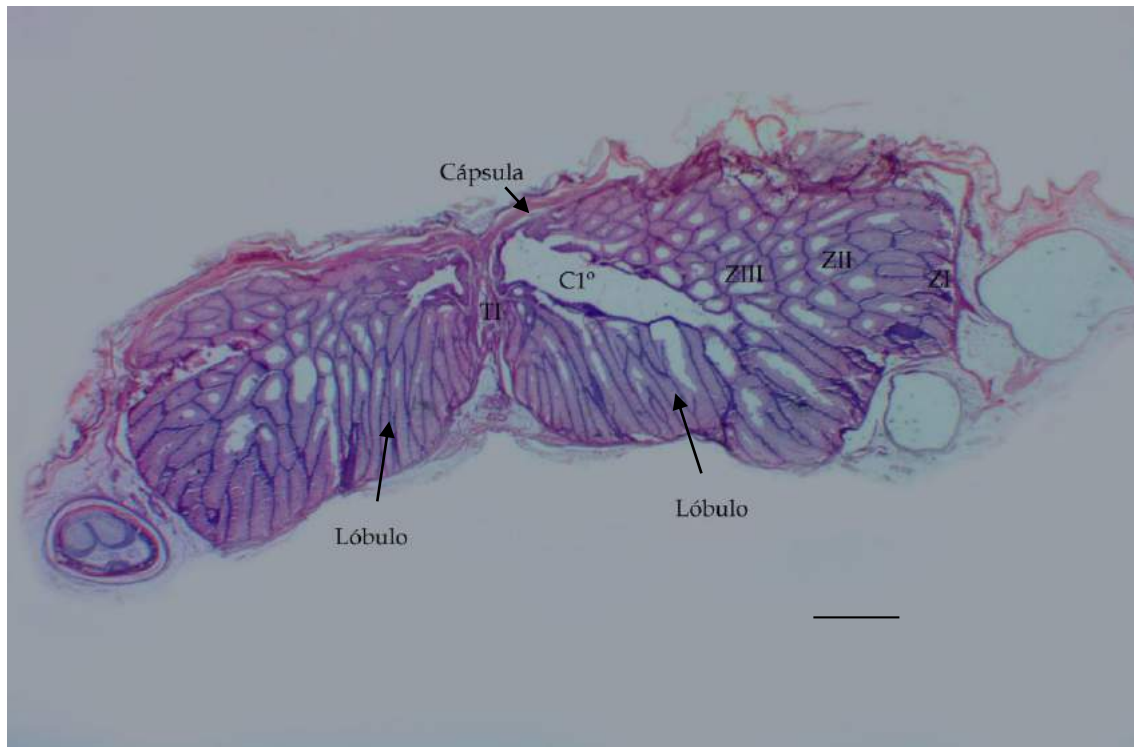


Figura 22: Vista general de la glándula uropigia del chimango (*Milvago chimango*). Se pueden observar ambos lóbulos de la glándula y las zonas en las que se dividen los adenómeros. Hematoxilia-Eosina, escala 10mm. C1°: cámara primaria, TI: tabique interlobular, ZI: zona I, ZII: zona II, ZIII: zona III.

Aves Marinas

PINGÜINOS: *Pygoscelis adeliae* y *P. papua*

Los lóbulos de la glándula uropigia en estas especies tienen forma de torpedo (Fig. 23), son alargados y cilíndricos y están bien diferenciados de la papila, que es también alargada y cilíndrica y tiene un pincel de plumas bien desarrollado.

La cápsula está compuesta por tejido conectivo denso (Fig. 24) y posee fibras elásticas (Fig. 25) y escasas fibras musculares lisas. El tejido conectivo que rodea a los adenómeros es más abundante en la región del centro de los lóbulos. Los adenómeros son poco ramificados y de recorrido recto: la zona I (Fig. 24) presenta un estrato basal formado por dos capas celulares, el estrato intermedio tiene también dos capas de células, el estrato secretor está compuesto por cinco a seis capas celulares y el degenerativo sólo posee una capa de células con núcleos picnóticos; el lumen es muy pequeño. La zona II (Fig. 26) presenta dos capas celulares tanto en su estrato basal como en el estrato intermedio, en tanto una a tres capas celulares conforman el estrato secretorio y entre una y tres capas constituyen el estrato degenerativo; en esta zona el lumen es un poco

más amplio que en la anterior. Por último, la zona III (Fig. 27) posee entre tres y cinco capas de células que corresponden a los estratos germinativos e intermedio y de una a tres capas de células aplanadas con núcleos picnóticos que dan origen al estrato degenerativo, la luz tubular es muy amplia. Los adenómeros de esta zona desembocan en cavidades secundarias cubiertas por un epitelio plano estratificado bajo y rodeadas por tejido conectivo con abundantes adipocitos, vasos sanguíneos, nervios y algunas fibras musculares (Fig. 28). Estas cavidades o conductos colectores terminan reuniéndose en la región de la papila para formar un único conducto excretor por lóbulo (Fig. 29).

La papila es de tipo compacto y posee abundante tejido conectivo denso rico en fibras colágenas. Hay dos poros excretores rodeados por tejido conectivo denso y vasos sanguíneos y linfáticos; el epitelio de estos poros es plano estratificado cornificado. Las plumas del pincel rodean ambos poros excretores y en esta región se pueden observar varios corpúsculos de Herbst (Fig. 30). También hay fibras musculares con disposición circular y longitudinal alrededor de los poros excretores, pero no llegan a formar un esfínter verdadero.

Técnicas histoquímicas

En ambas especies de pingüinos, la técnica de PAS y azul alcian pH 2,5 (Fig. 31) tuvieron una reacción positiva mientras que los demás alcianes a distintos pHs (Fig. 32) (Tabla 9).

Tabla 9: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia de los pingüinos de Adelia (*Pygoscelis adeliae*) y Papua (*P. Papua*).

Técnicas	Cél. Basales	Cel. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	+	++	++
AA pH 0.5	-	-	-	-
AA pH 1	-	-	-	-
AA pH 2.5	+	-	+	++
AA-PAS	+	+	+	++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcían. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.



Figura 23: Glándula uropigia del pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*).

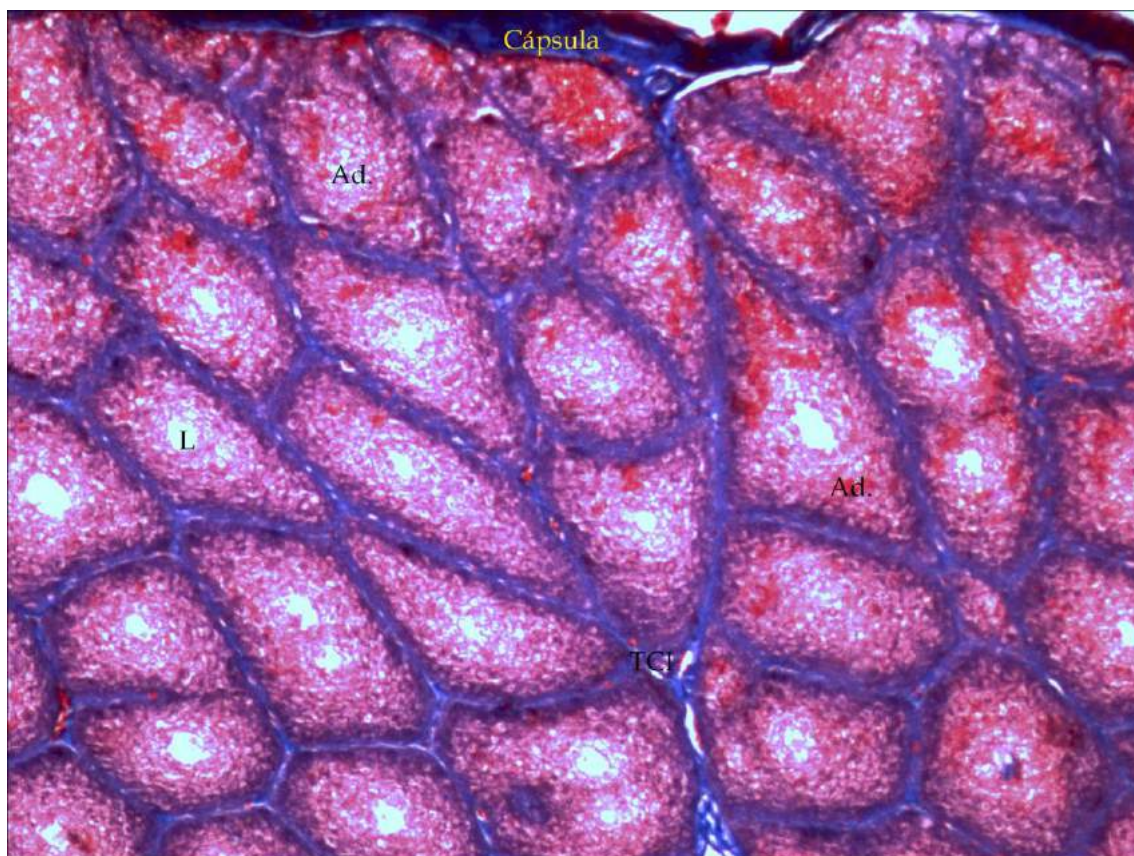


Figura 24: Detalle de la zona I de la glándula uropigia del pingüino Papua (*Pygoscelis papua*). Se observa la cápsula de tejido conectivo denso que rodea los lóbulos. Tricrómico de Mallory 4x. Ad: adenómeros, L: lumen, TCI: tejido conectivo interalveolar.

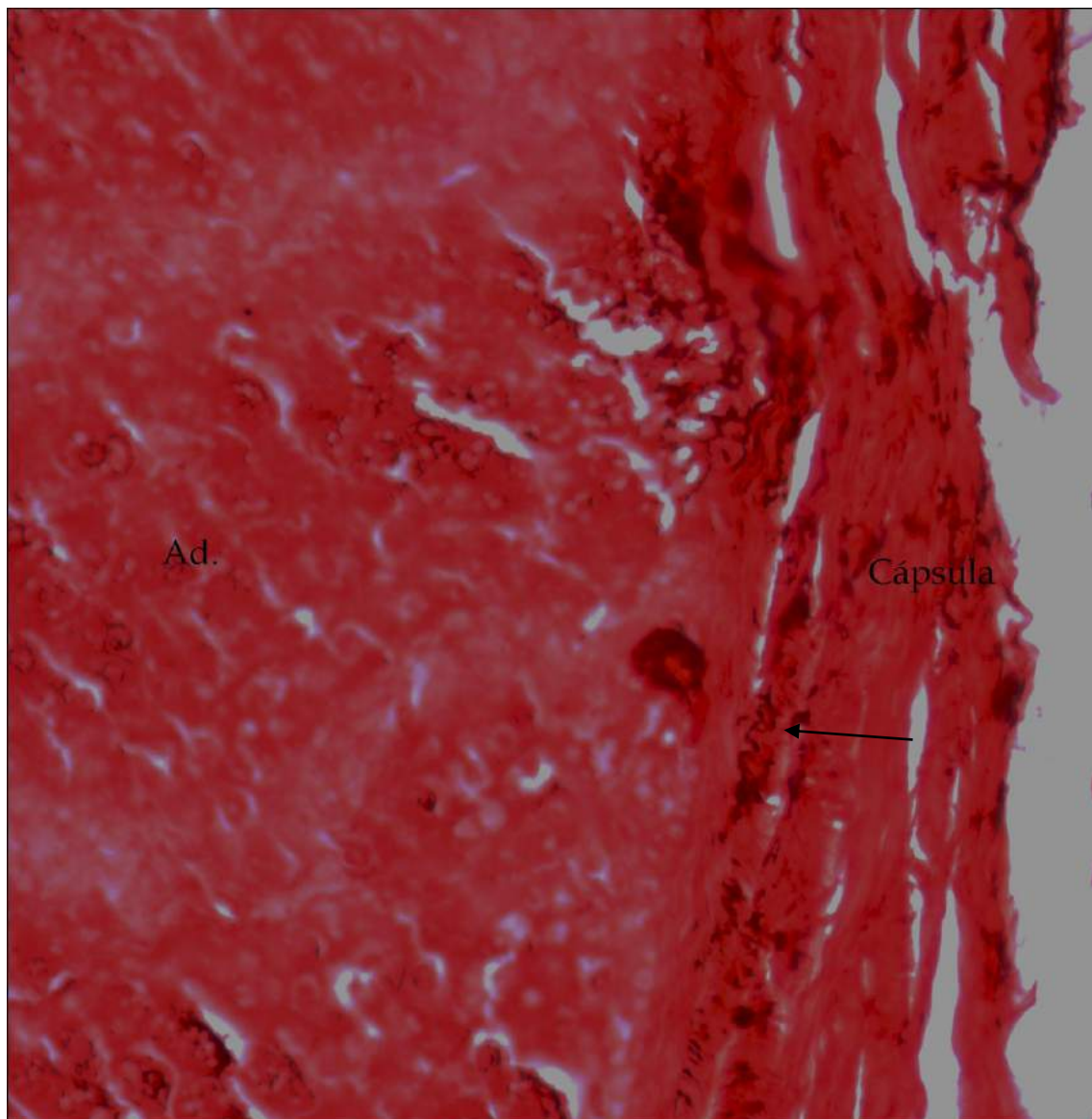


Figura 25: Detalle de la glándula uropigia del pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*). La flecha señala fibras elásticas. Orceína 20X. Ad: adenómero.

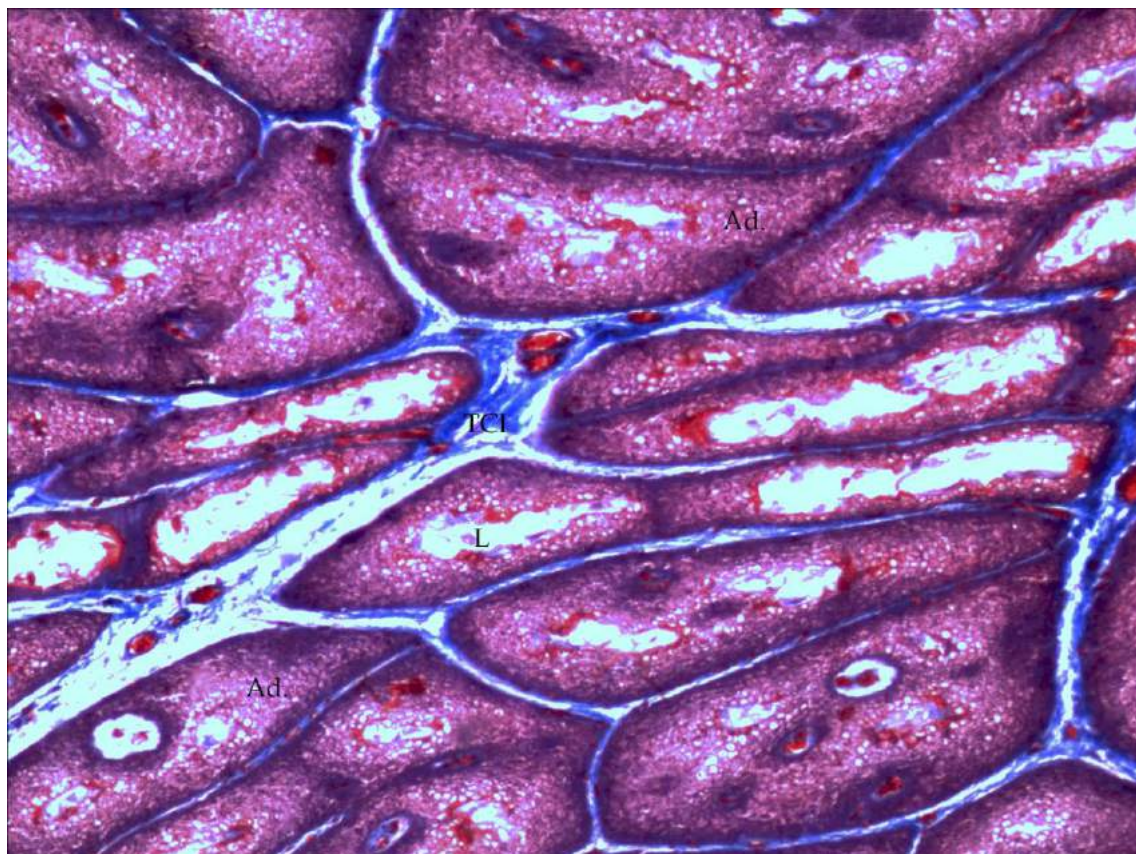


Figura 26: Detalle de la zona II de la glándula uropigia del pingüino papua (*Pygoscelis papua*). Tricrómico de Mallory 4X. Ad: adenómeros, L: lumen, TCI: tejido conectivo interalveolar.

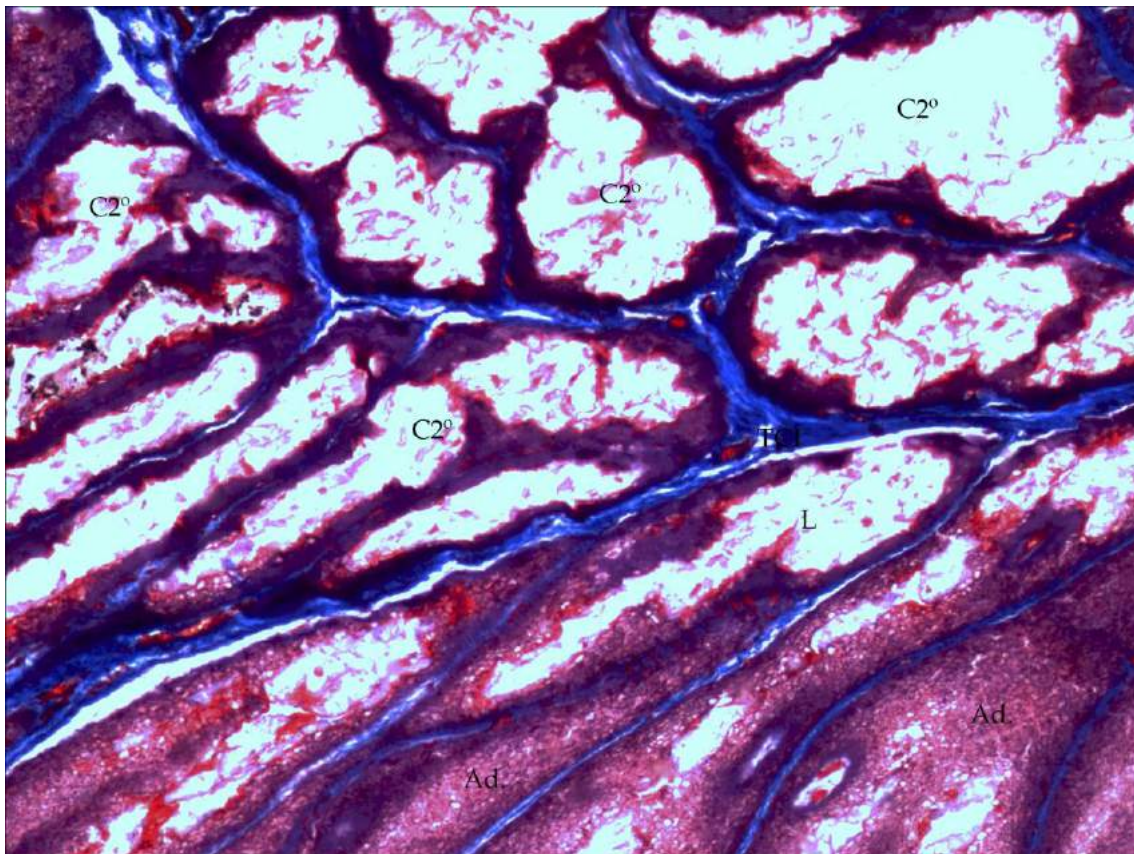


Figura 27: Detalle de la zona III de la glándula uropigia del pingüino Papua (*Pygoscelis papua*). Tricrómico de Mallory 4X. Ad: adenómeros, C2°: cámaras secundarias, L: lumen, TCI: tejido conectivo interalveolar.

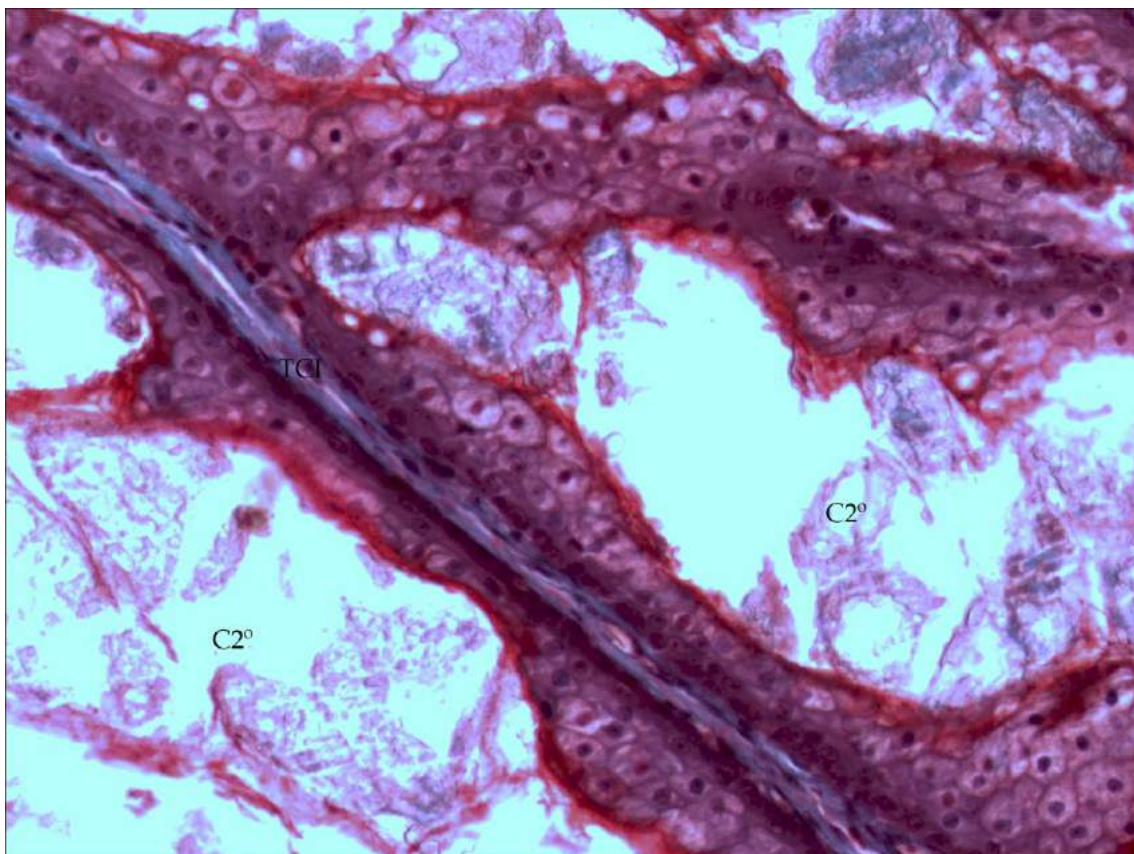


Figura 28: Detalle del epitelio de las cámaras secundarias de la glándula uropigia del pingüino Papua (*Pygoscelis papua*). Tricrómico de Gomori 20X. C2°: cámaras secundarias, TCI: tejido conectivo interalveolar.



Figura 29: Detalle de la papila de la glándula uropigia del pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*). Se observa un solo conducto excretor rodeado por tejido conectivo denso, vasos sanguíneos, fibras musculares y folículos plumosos. Hematoxilina-Eosina 4X. Co: conducto excretor, CH: corpúsculo de Herbst, FP: folículo plumoso, TCD: tejido conectivo denso.

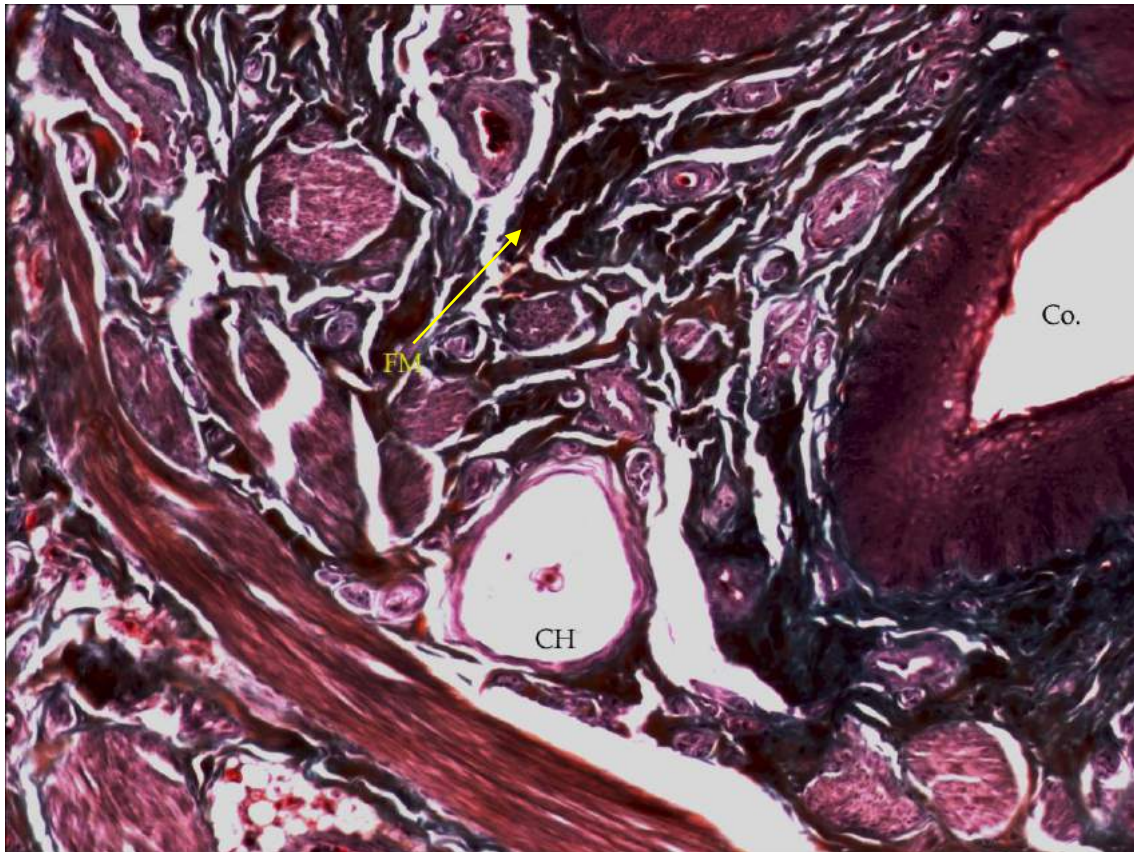


Figura 30: Detalle de la papila de la glándula uropigia del pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*). Se puede observar con mayor detalle uno de los corpúsculos de Herbst. La flecha amarilla indica fibras musculares. Tricrómico de Gomori 10X. Co: conducto excretor, CH, corpúsculo de Herbst, FM: fibras musculares lisas

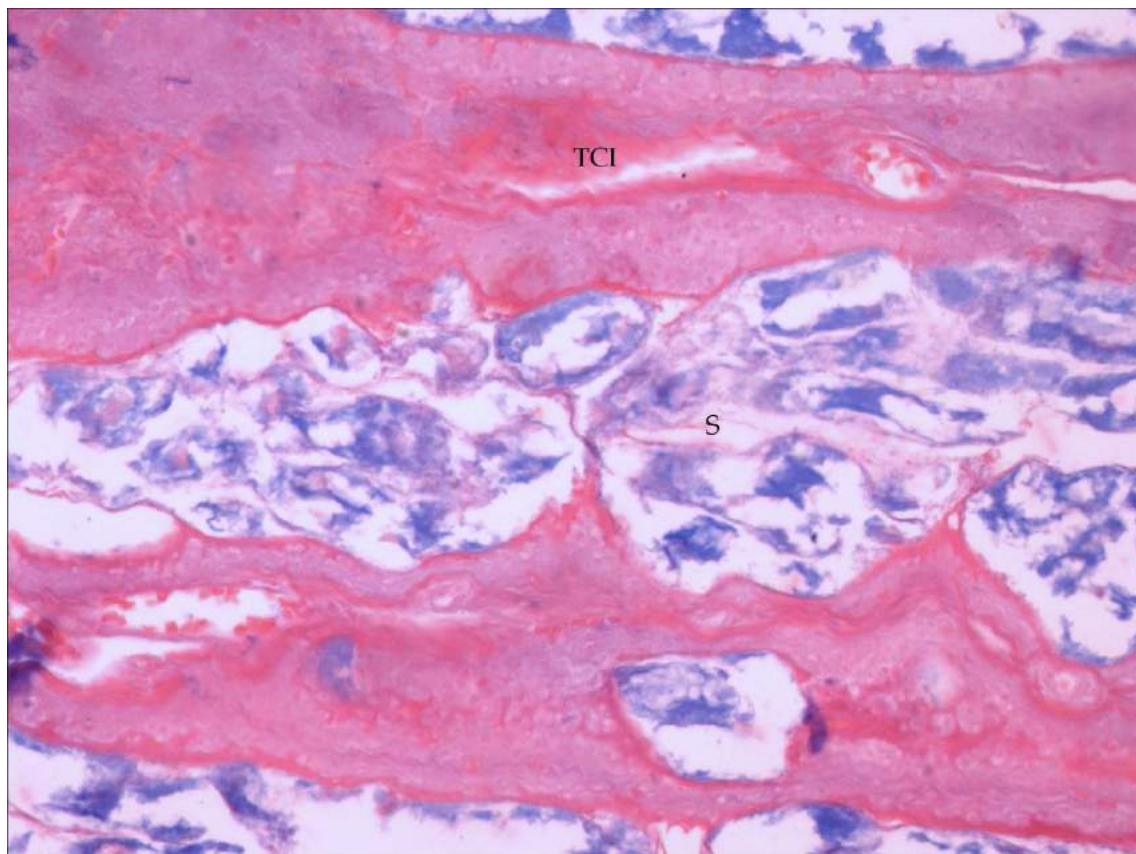


Figura 31: Corte longitudinal de la glándula uropigia del pingüino Papua (*Pygoscelis papua*). Azul alcian pH 2,5 10X. S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

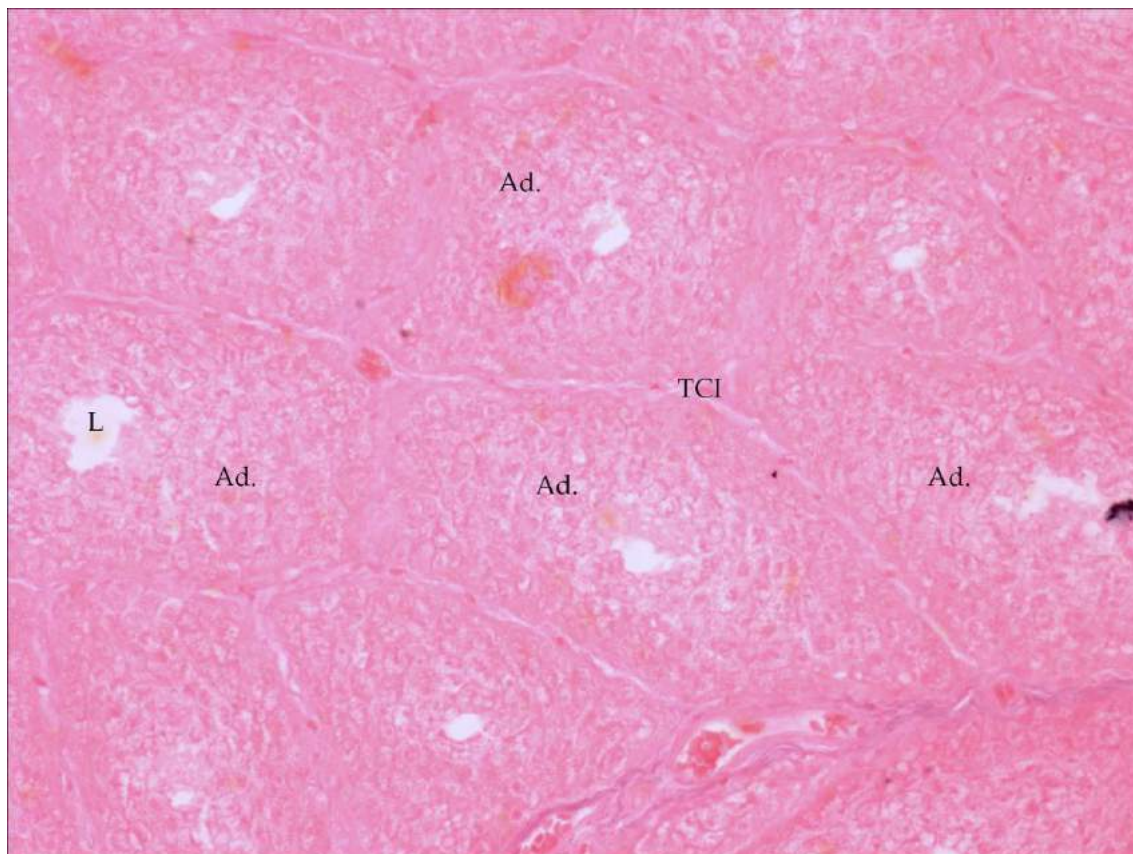


Figura 32: Detalle de la glándula uropigia del pingüino Papua (*Pygoscelis papua*). Técnica de azul alcian pH 1 negativa, sólo es posible observar la tinción de contraste realizada con Eosina. Azul alcian pH 1 10X. Ad: adenómeros, L: lumen, TCI: tejido conectivo interalveolar.

PETRELES DE LAS TORMENTAS: *Oceanites oceanicus* y *Fregetta tropica*

En estas especies la glándula uropigia tiene una forma redondeada (Fig. 33) por lo cual no se distinguieron los lóbulos a simple vista; no obstante, con la observación microscópica pudieron diferenciarse dos lóbulos separados por un delgado tabique de tejido conectivo denso (Fig. 34).

La estructura histológica es idéntica en ambas especies; la cápsula y el tabique interlobular son muy delgados y el tejido conectivo entre los adenómeros es muy escaso (Fig. 35). Las fibras musculares son raras en la cápsula y no se encuentran en el tabique ni en el tejido interalveolar; pueden observarse fibras elásticas (Fig. 36) y reticulares. Los adenómeros, tubulares, están muy ramificados en la periferia de la glándula y son de recorrido tortuoso. En la zona I se observa una monocapa de células en el estrato basal, dos capas celulares en el estrato intermedio, entre cuatro y ocho capas de células secretoras y una capa de células de aspecto degenerativo que contactan con un lumen muy pequeño. La zona II también posee una única capa de células basales, una o dos capas celulares de estrato intermedio, entre una y tres capas de células secretoras y un estrato degenerativo formado por una o dos capas de células; la luz tubular es más amplia que en la zona I. En la zona III se pudieron observar adenómeros con un lumen muy amplio y compuestos por una capa de células basales y otra de células intermedias, un estrato secretor con una o dos capas de células y entre una y dos capas con células en degeneración. A partir de esta zona surgen conductos colectores secundarios que convergen en la zona de la papila formando una pequeña cavidad primaria de almacenamiento (Fig. 37).

En la papila, de tipo delicado, se advierten dos poros excretores (uno por lóbulo), tejido conectivo denso y algunas fibras musculares localizadas entre los poros pero nunca formando un esfínter alrededor de los mismos; también hay folículos plumosos pertenecientes a las plumas del pincel que rodean los conductos excretores.

Técnicas histoquímicas

Se pudo observar PAS positividad en la glándula uropigia de ambas especies. La técnica de azul alcian a distintos pHs también fue positiva; la mayor reacción se encontró a pH 2.5, evidenciando la presencia de glicoproteínas con grupos carboxilos o con ésteres sulfato (Tabla 10).

Tabla 10: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia de los petreles de las tormentas, petrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*) y petrel de vientre negro (*Fregetta tropica*).

Técnica	Cél. Basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	+	++	+++
AA pH 0.5	+	-	-	+
AA pH 1	+	-	-	+
AA pH 2.5	++	+	+	+++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcian. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

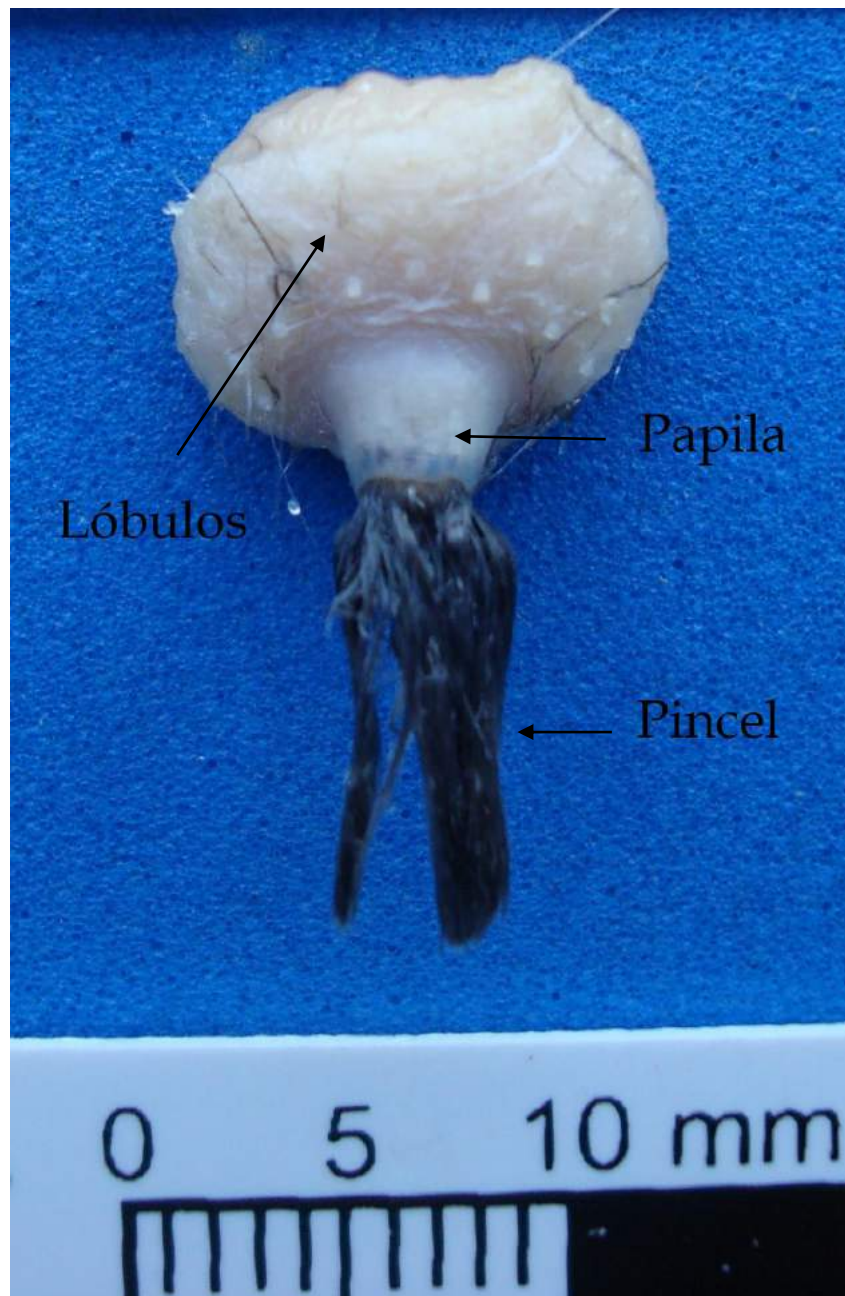


Figura 33: Glándula uropigia del petrel de vientre negro (*Fregatta tropica*).



Figura 34: Glándula uropigia del petrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*). Se pueden observar ambos lóbulos separados por el tabique interlobular. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómeros, Lo: lóbulos, TI: tabique interlobular.

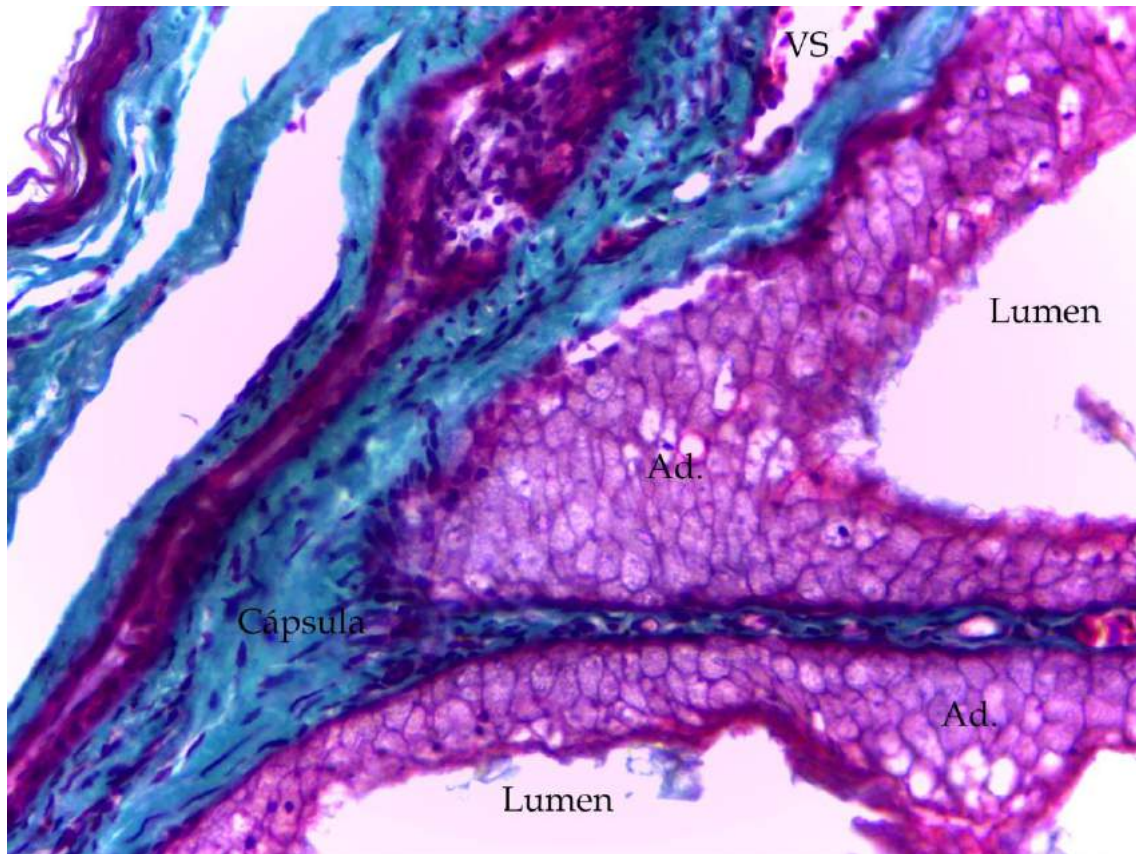


Figura 35: Detalle de la cápsula de la glándula uropigia del petrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*). Tricrómico de Gomori 40X. Ad: adenómeros, VS: vaso sanguíneo.

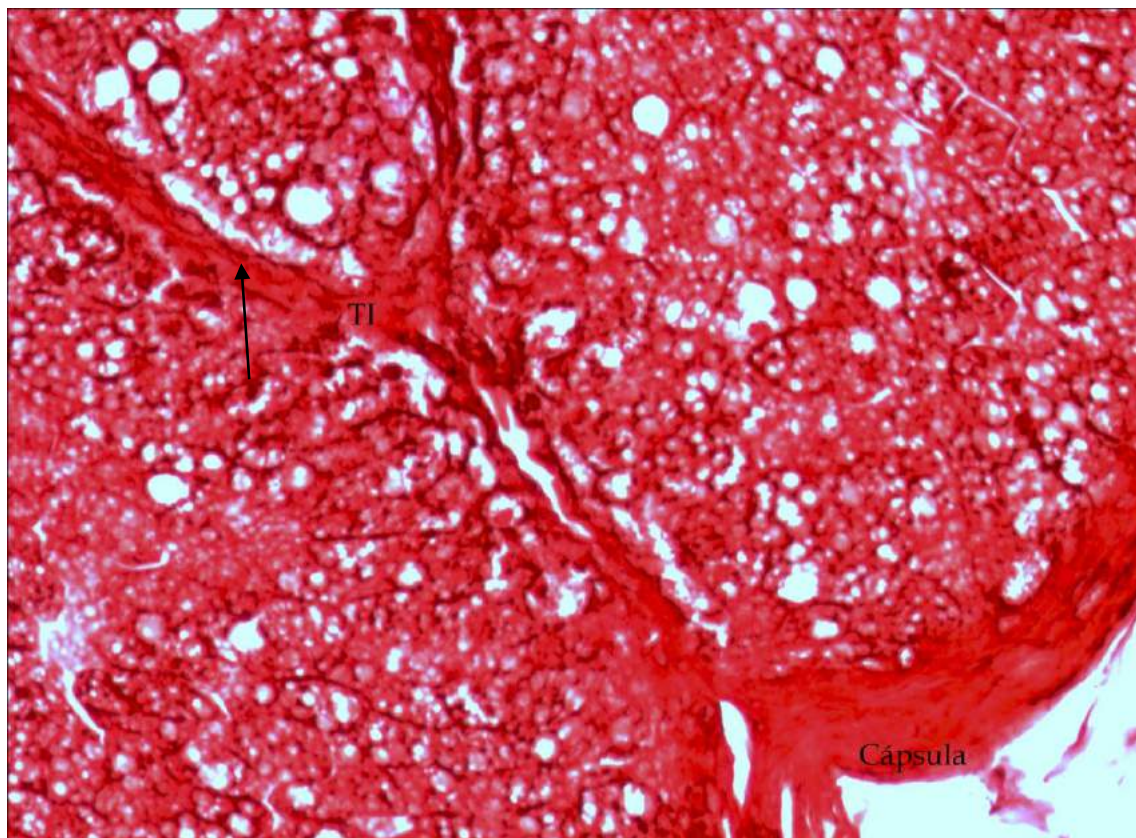


Figura 36: Corte longitudinal de la glándula uropigia del petrel de vientre negro (*Fregatta tropica*). La flecha señala fibras elásticas. Orceína 20X. TI: tabique interlobular.

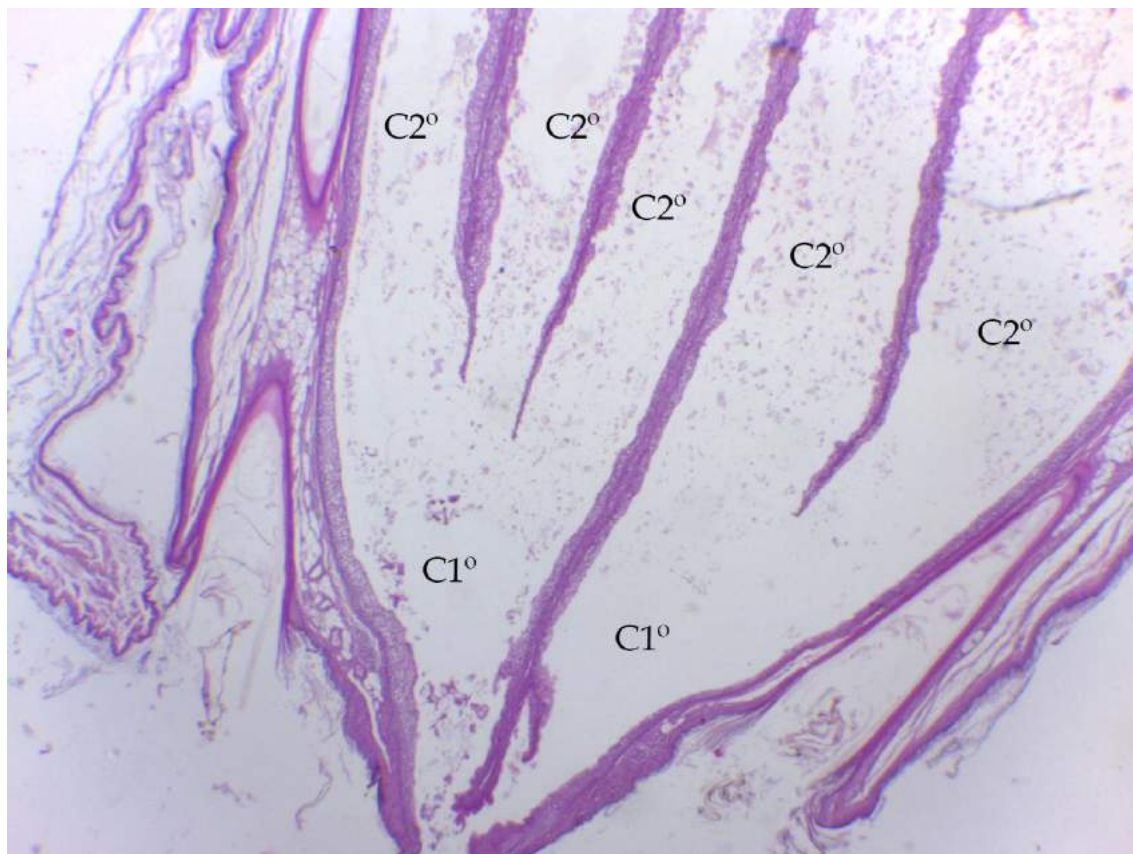


Figura 37: Corte longitudinal de la glándula uropigia del petrel de Wilson (*Oceanites oceanicus*). Se observa como las cámaras secundarias desembocan en pequeñas cámaras primarias de almacenamiento que se encuentran justo antes de la zona de la papila. Hematoxilina-Eosina 4X. C1°: cámaras primarias, C2°: cámaras secundarias.

SKÚAS: *Stercorarius antarcticus lonnbergi* y *S. maccormicki*

En estas aves marinas, la glándula uropigia tiene forma de corazón; está compuesta por dos lóbulos y una papila corta y poco desarrollada, con un pincel de plumas abundantes alrededor de los poros excretores (Fig. 38).

La cápsula que rodea la glándula está formada por tejido conectivo denso (Fig. 39) con algunas fibras musculares y fibras elásticas. A partir de la cápsula surge el tabique interlobular y, tanto de la cápsula como del tabique parten delgadas trabéculas de tejido conectivo que rodean a los adenómeros (Fig. 39). En la cápsula, en el tabique interlobular y en las trabéculas se pueden observar fibras elásticas y reticulares además de las fibras colágenas.

El parénquima está compuesto por adenómeros tubulares muy ramificados y de recorrido tortuoso, el epitelio de los adenómeros de la zona I posee un estrato basal con dos capas basales, hasta cinco capas de células intermedias, tres secretoras y una degenerativa, que contactan con una luz pequeña (Fig. 40). La zona II, tiene una o dos capas de células basales, una o dos intermedias dos a cuatro secretoras y una o dos degenerativas, y la luz tubular es un poco más amplia que en la zona anterior. Por último, en la zona III podemos observar una capa en el estrato basal, una capa en el intermedio, una a dos en el secretor y una o dos en el degenerativo, siendo el lumen muy amplio en estos adenómeros. Desde aquí, las unidades glandulares se reúnen formando cavidades secundarias o conductos colectores que se dirigen directamente hacia la papila, ya que no existe una cavidad primaria de almacenamiento.

La papila es de tipo corto, formada por abundante tejido conectivo denso, células adiposas y fibras elásticas. Hay entre 4 y 6 conductos excretores por lóbulo y plumas del pincel rodeando la desembocadura de los poros (Fig. 41). En el tejido conectivo que separa los conductos de ambos lóbulos, también pueden observarse algunos corpúsculos de Herbst.

Técnicas histoquímicas

Se pudo observar PAS positividad en la glándula uropigia de ambas especies (Fig. 42). La técnica de azul alcian a distintos pHs sólo fue positiva para el pH 2,5 (Fig. 42), evidenciando la presencia de glicoproteínas con grupos carboxilos (Tabla 11).

Tabla 11: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia de los skúas pardo (*Stercorarius antarcticus lonnbergi*) y polar del Sur (*S. maccormicki*).

Técnica	Cel. Basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativa	Secreción
PAS	++	-	-	+
AA pH 0.5	-	-	-	-
AA pH 1	-	-	-	-
AA pH 2.5	-	-	-	++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcían. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

La tabla 12 resume la reacción frente a las lectinas de la glándula uropigia de skúas; ambas especies mostraron igual reacción ante las distintas lectinas realizadas. Muchas de las lectinas analizadas no reaccionaron. Aquellas que fueron positivas mostraron un patrón homogéneo de reacción en todas las zonas de la glándula uropigia (Fig. 43-44).

Tabla 12: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia de los skúas pardo (*Stercorarius antarcticus lonnbergi*) y polar del Sur (*S. maccormicki*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	+++	+++	+++	+++
WGA	+	+	+	+
sWGA	-	-	-	-
SBA	++	++	++	++
PNA	-	-	-	-
RCA-I	-	-	-	-
DBA	-	-	-	-
UEA-I	-	-	-	-

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Técnicas inmunohistoquímicas

En ambas especies de skúas se determinó la presencia de citoqueratina en el epitelio de los adenómeros de la glándula uropigia (Fig. 45).

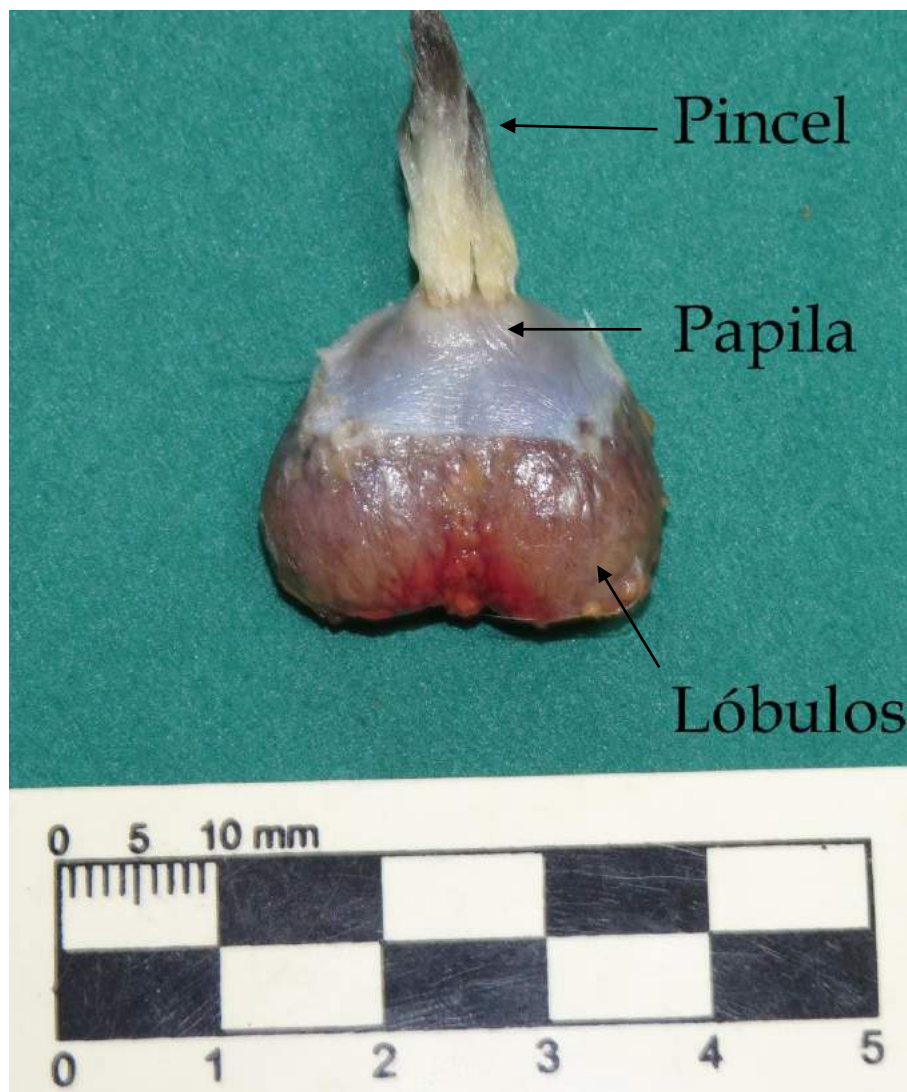


Figura 38: Glándula uropigia del skúa polar del sur (*Stercorarius maccornicki*).

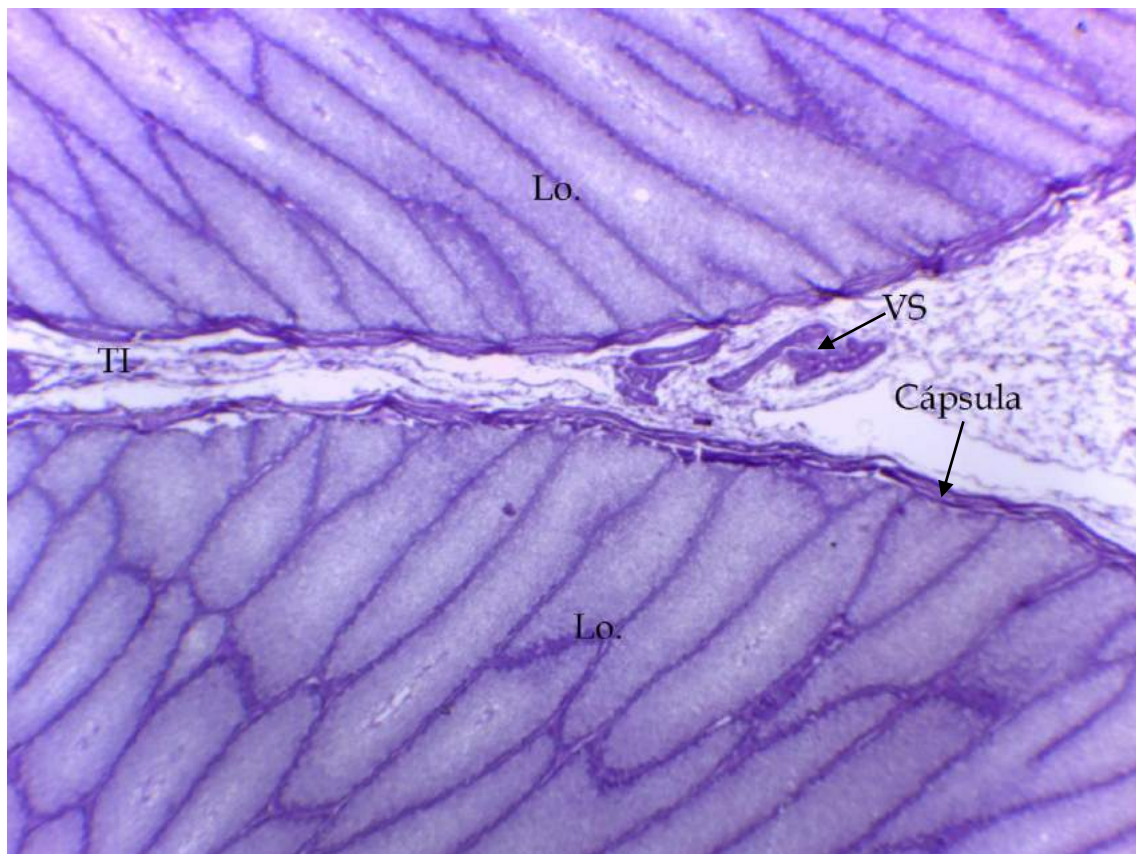


Figura 39: Corte longitudinal de la glándula uropigia del skúa pardo (*Stercorarius antarcticus lonnbergi*). Hematoxilina-Eosina 4X. Lo: lóbulos, TI: tabique interlobular, VS: vasos sanguíneos.

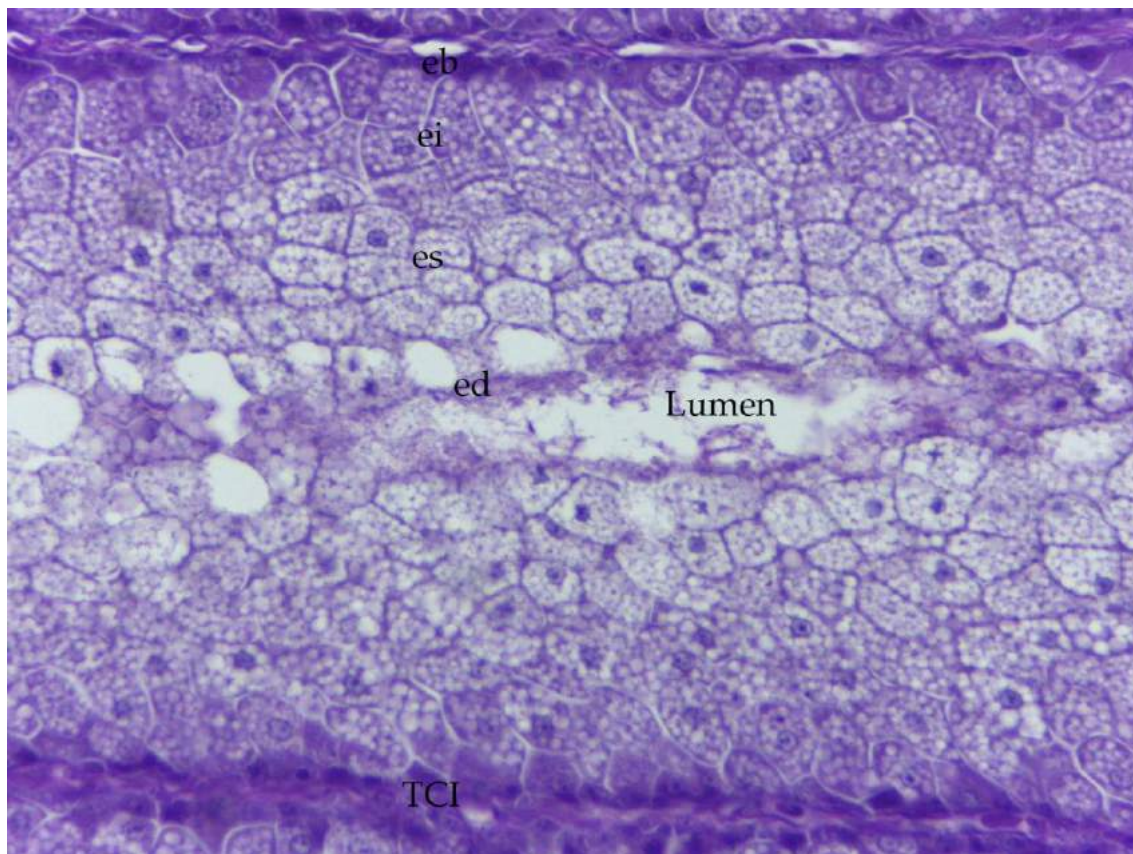


Figura 40: Detalle del epitelio de los adenómeros de la zona I de la glándula uropigia del skúa polar del Sur (*Stercorarius macormicki*). Hematoxilina-Eosina 40X. eb: estrato basal, ed: estrato degenerativo, ei: estrato intermedio, es: estrato secretor, TCI: tejido conectivo interalveolar.

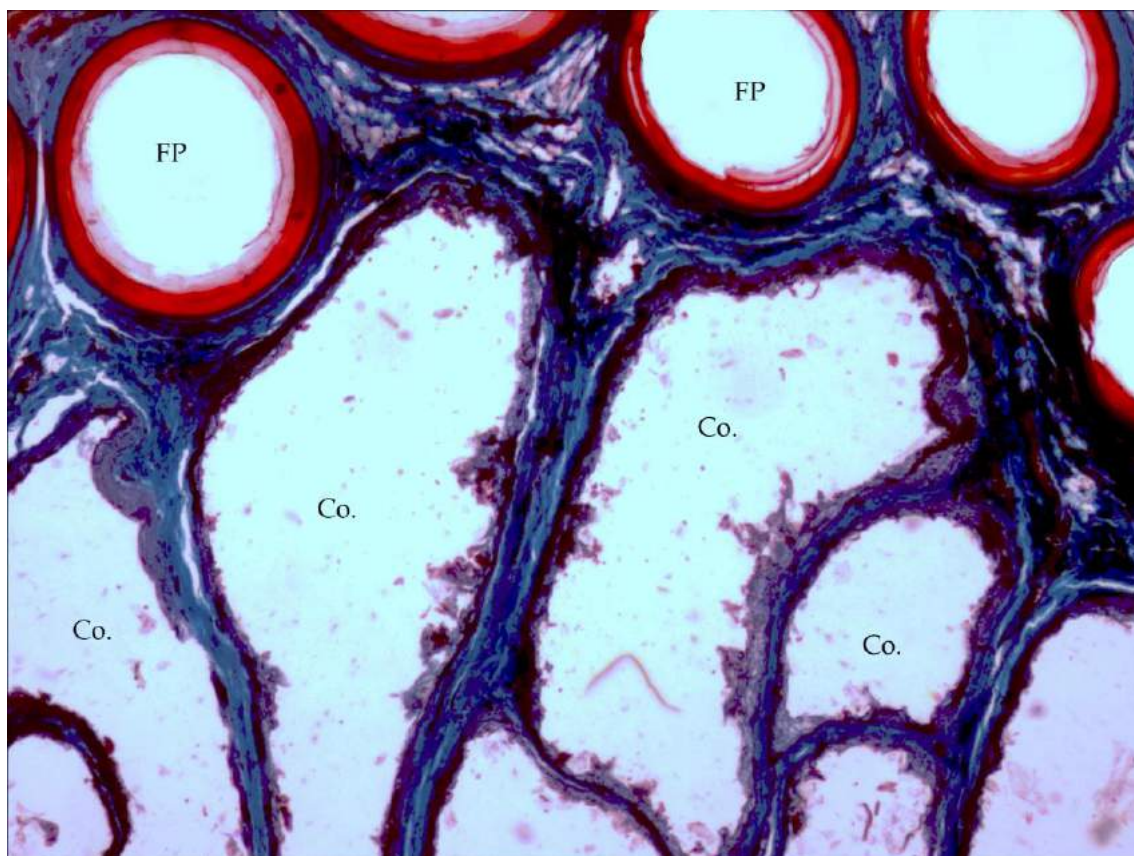


Figura 41: Corte transversal de la papila de la glándula uropigia del skúa pardo (*Stercorarius antarcticus lonnbergi*). Tricrómico de Gomori 4X. Co: conductos excretores, FP: folículos plumosos.

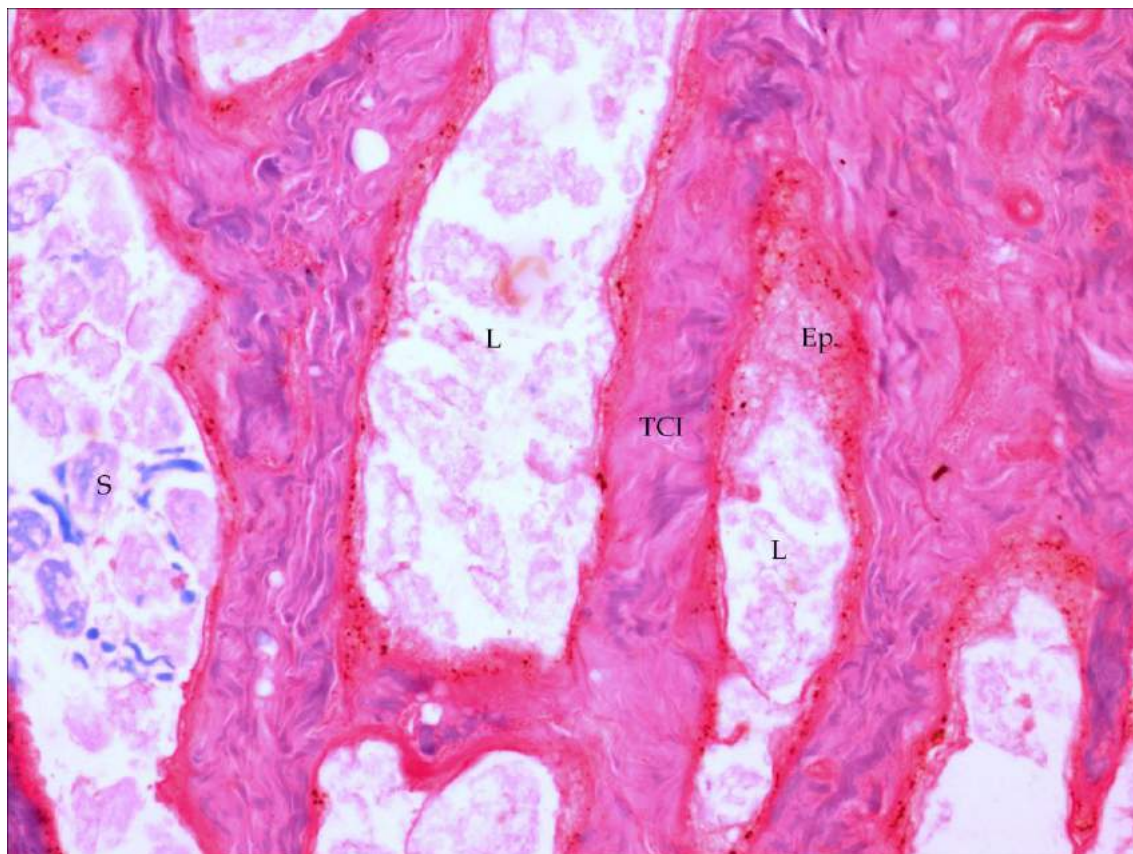


Figura 42: Glándula uropigia del skúa polar del sur (*S. maccormicki*). La flecha señala las PAS positividad en el estrato basal del epitelio de los adenómeros y puede observarse PAS positividad y reacción positiva para azul alcian pH 2,5 en la secreción uropigial. PAS-AA 10X. Ep: epitelio, L: lumen, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

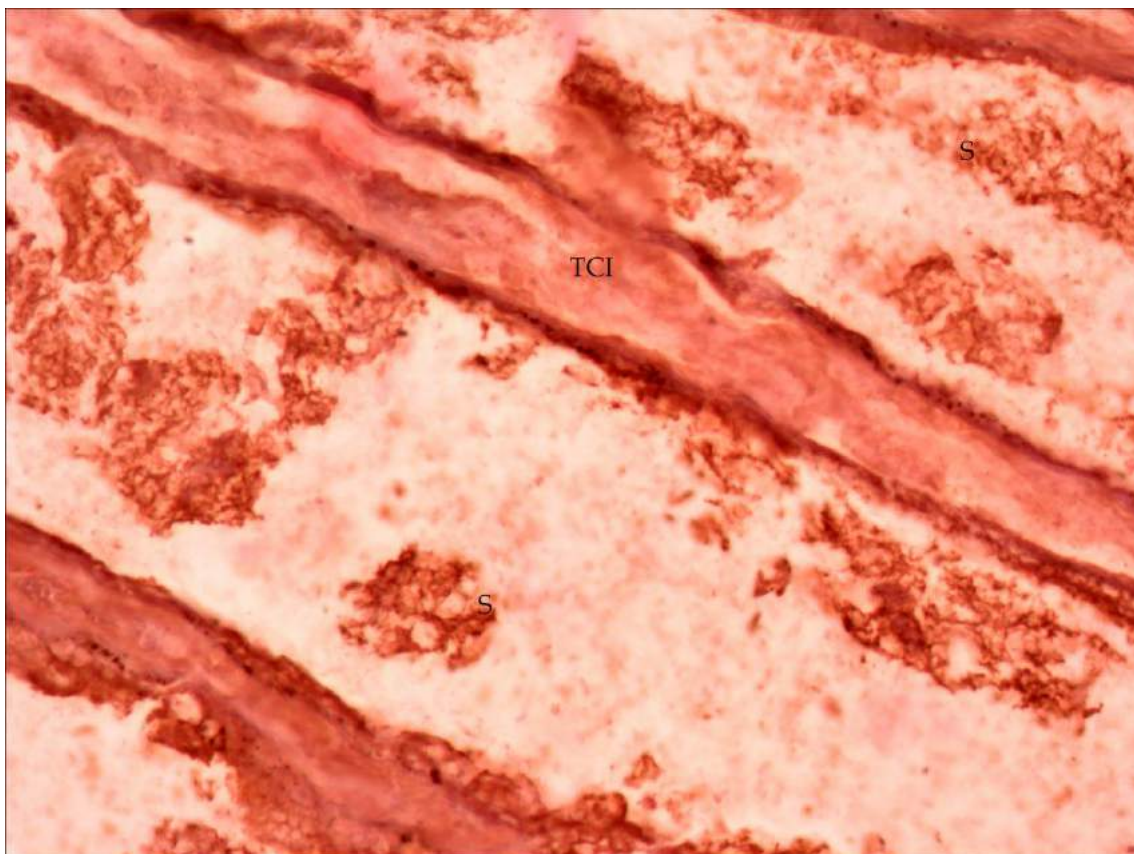


Figura 43: Corte longitudinal de la glándula uropigia del skúa polar del sur (*S. macormicki*).
Lectina CON-A 20X. S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

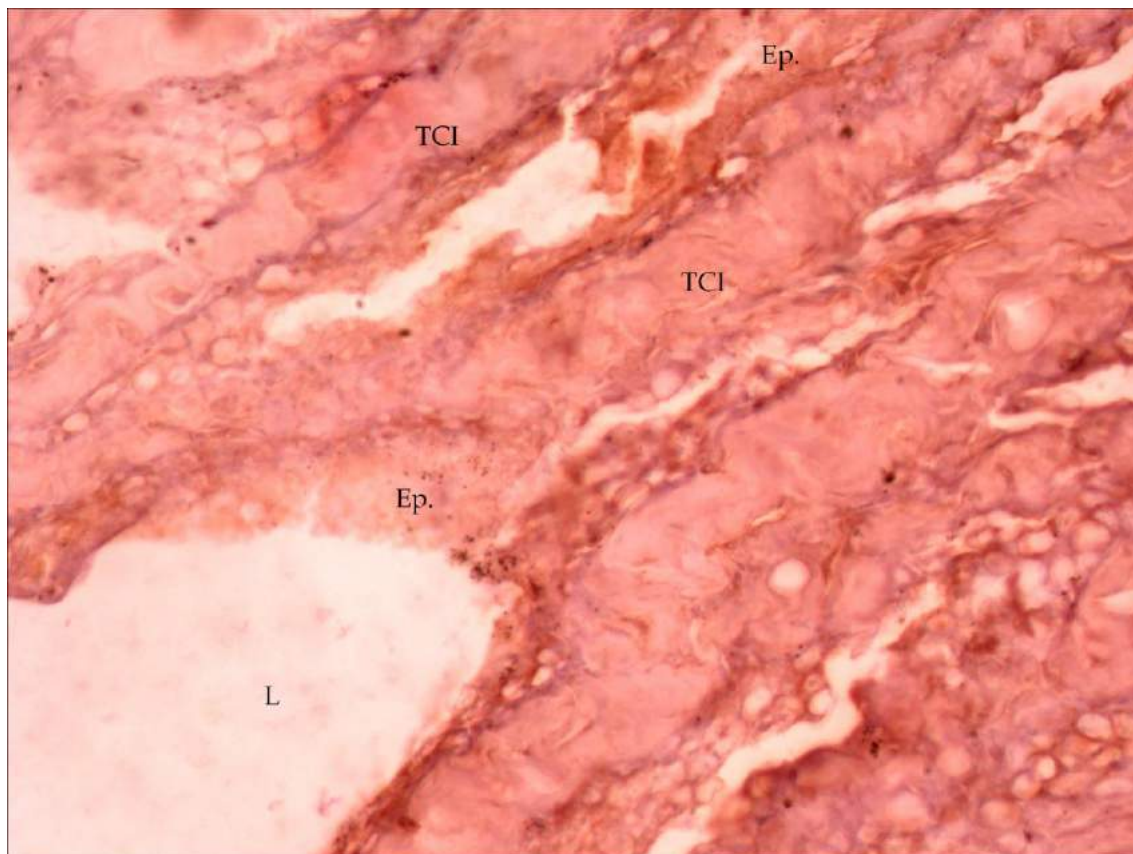


Figura 44: Corte longitudinal de la glándula uropigia del skúa pardo (*S. antarcticus lonnbergi*).
Lectina SBA 20X. Ep: epitelio, L, lumen, TCI: tejido conectivo interalveolar.

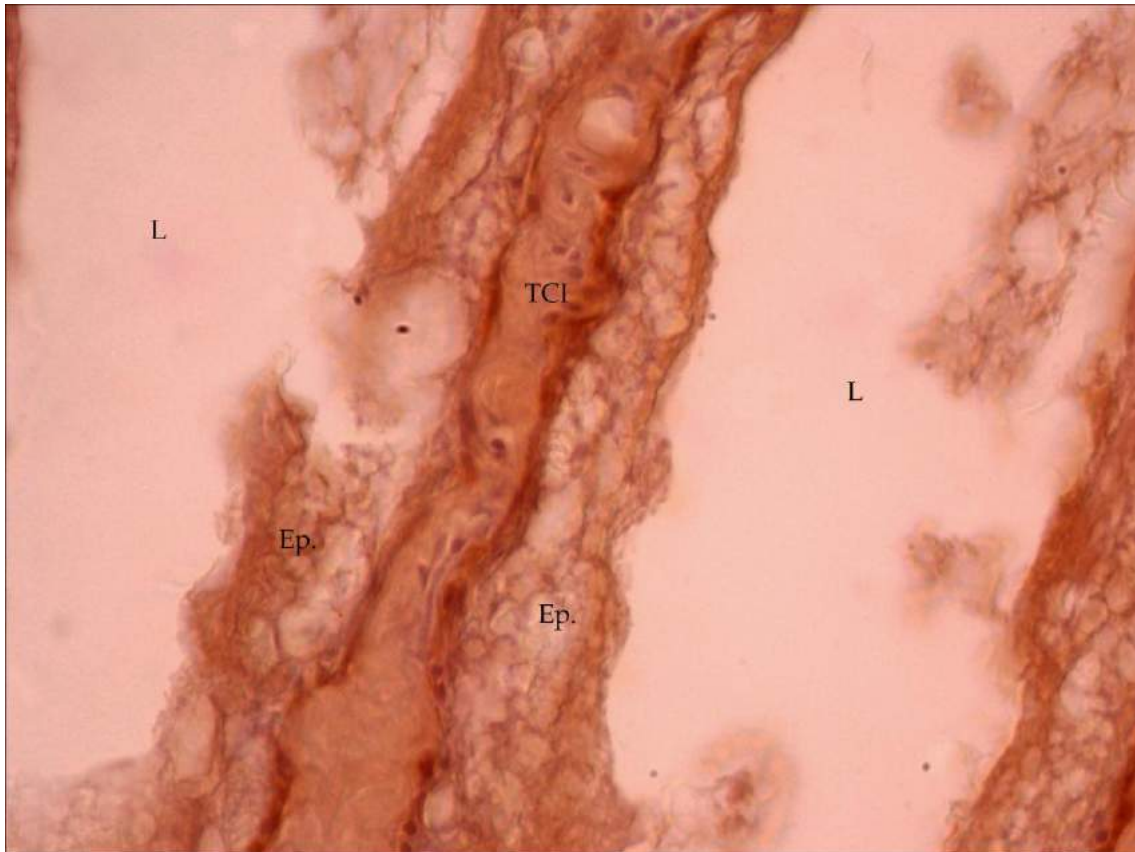


Figura 45: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia del skúa polar del sur (*S. maccormicki*). CK 40X. Ep: epitelio, L: lumen, TCI: tejido conectivo interalveolar.

Capítulo V

Histología de la glándula uropigia de aves de cuerpos de agua continentales



RESULTADOS

Aves de cuerpos de agua continentales

MACÁ TOBIANO *Podiceps gallardoi*

Estas aves tienen una glándula uropigia bilobulada. Ambos lóbulos están separados en su base, pero se unen unos milímetros antes de la región de la papila. Dicha papila está bien diferenciada de los lóbulos y posee forma cónica con su extremo levemente redondeado. El pincel de plumas está poco desarrollado y la inserción de los folículos no es en el extremo de la papila sino hacia proximal del mismo (Fig. 46).

La cápsula de tejido conectivo denso que rodea la glándula es delgada y rica en fibras colágenas (Fig. 47). El tabique interlobular está muy desarrollado y es corto, lo que motiva que los lóbulos solo estén separados en la base (Fig. 48). El tejido conectivo que envuelve a los adenómeros es muy delgado (Fig. 49); sin embargo, el estroma que rodea las cavidades secundarias está mucho más desarrollado. Tanto en la cápsula como en el tabique y el tejido conectivo interalveolar pueden observarse abundantes fibras elásticas (Fig. 50).

Los adenómeros son tubulares, muy ramificados y de recorrido sinuoso en la periferia de la glándula; en cambio hacia el centro, la ramificación de los adenómeros disminuye. La zona I está compuesta por adenómeros cuyo epitelio posee un estrato con una capa basal, 1-2 capas en el estrato intermedio, 3-4 capas de células secretoras y 1-2 capas con células degenerativas; el epitelio de los adenómeros de la zona II se compone de 1 capa basal, 1 capa de células intermedias, 2-3 capas secretoras y 1-2 capas degenerativas y la zona III posee adenómeros con 1 capa basal, 1 capa intermedia, 2 capas de células secretoras y 1 degenerativa. Luego surgen las cavidades secundarias (Fig. 51) revestidas por un epitelio plano estratificado que no posee aspecto secretor. El lumen se va ampliando hacia las cámaras secundarias. No se observó cámara primaria de almacenamiento.

La papila corresponde al tipo delicado, está formada por abundante tejido conectivo denso. Se puede observar la presencia de pequeños vasos sanguíneos y dos poros excretores (uno por lóbulo) revestidos por un epitelio plano estratificado cornificado y sin células secretoras (Fig. 52). Una característica llamativa es que las plumas del pincel no se disponen alrededor de los poros como en otras especies de aves; los folículos plumosos se encuentran insertados en una zona de transición entre la papila y el

comienzo de los lóbulos de la glándula uropigia. También se encontraron fibras elásticas y reticulares, éstas últimas son muy abundantes en el tejido conectivo ubicado entre los adenómeros.

Técnicas histoquímicas

La tabla 13 resume la reacción de la glándula uropigia del macá tobiano frente a las distintas técnicas aplicadas. Se observó positividad, en mayor o menor medida, tanto para PAS como para los distintos alcianes.

Tabla 13: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia del macá tobiano (*Podiceps gallardoi*).

Técnica	Cél. Basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	-	+	+
AA pH 0.5	+	-	-	-/+
AA pH 1	+	-	-	-/+
AA pH 2.5	++	-	+	++
AA-PAS	++	-	+	++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcian. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

Se observó positividad para varias de las lectinas utilizadas (Tabla 14) (Figs. 53-54). En el caso de LCA, sólo se marca levemente el tejido conectivo pero no se evidencia positividad en el tejido productor de secreción. Las lectinas WGA, PNA, RCA-I y UEA-I marcaron fuertemente la periferia de las células de los adenómeros.

Tabla 14: Lectinohistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia del macá tobiano (*Podiceps gallardoi*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	-	-	-	-
LCA	-	-	-	-
WGA	+	+	+	+
sWGA	-	-	-	-
LEA	-	-	-	-
SBA	-	-	-	-
PNA	+++	+++	+++	+++
RCA-I	++	++	++	++
BSA-I	-	-	-	-
UEA I	++	++	++	++

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

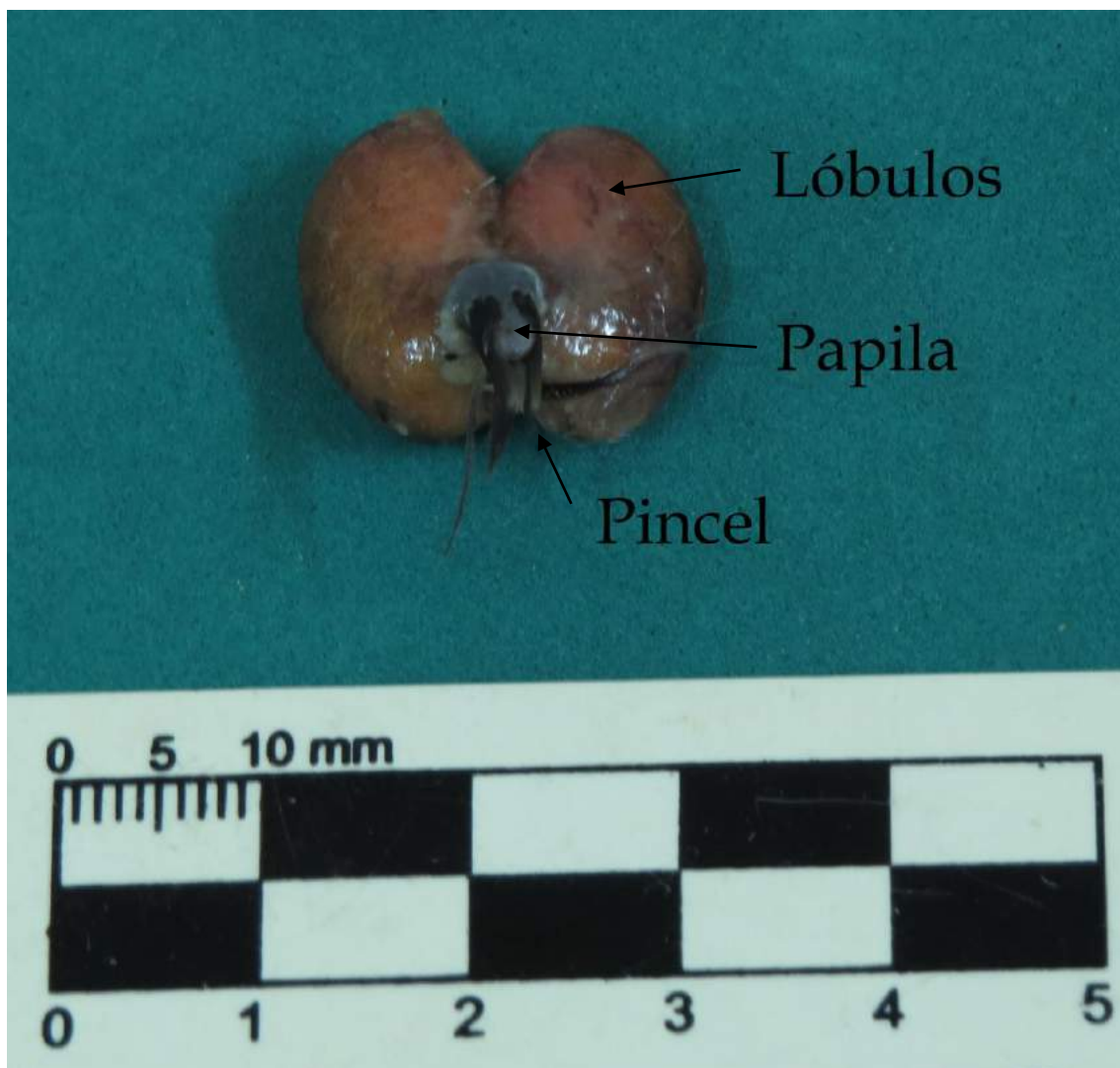


Figura 46: Glándula uropigia del macá tobiano (*Podiceps gallardoi*). Se observan dos lóbulos bien desarrollados y una papila cónica. Es posible observar la zona de inserción de las plumas del pincel en la base de la papila.

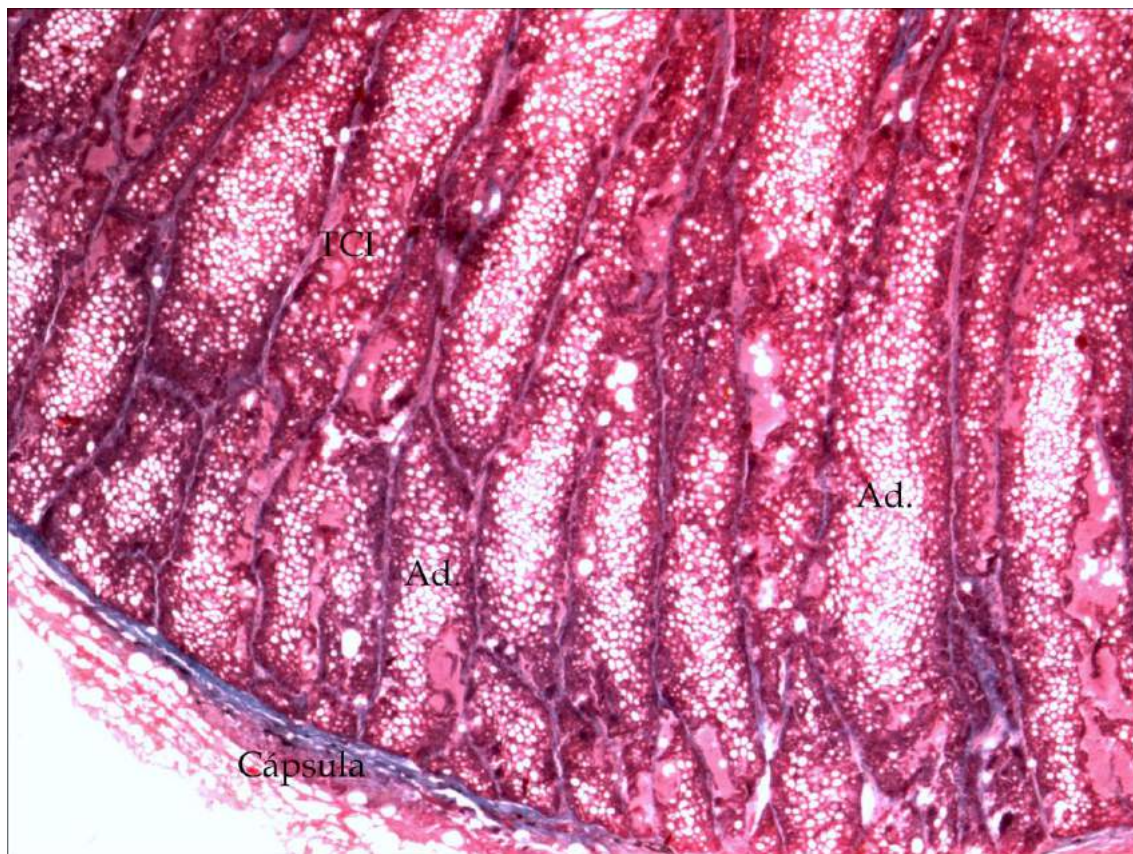


Figura 47: Corte longitudinal de un lóbulo de la glándula uropigia del macá tobiano. Tricrómico de Gomori 4X. Ad: adenómero, TCI: tejido conectivo interalveolar.

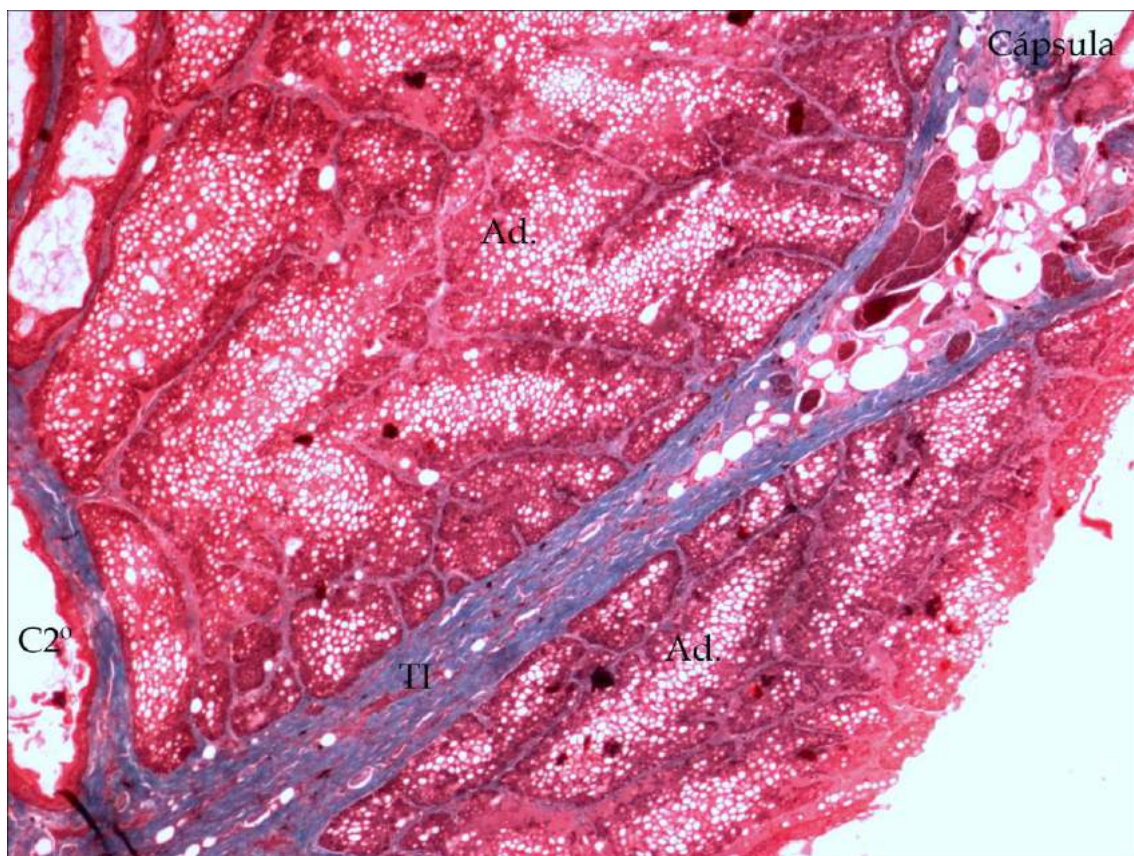


Figura 48: Corte transversal de la glándula uropigia del macá tobiano. Se observa un tabique interlobular muy desarrollado, separando ambos lóbulos. Tricrómico de Gomori 4X. Ad: adenómero, C2°: cámara secundaria, TI: tabique interlobular.



Figura 49: Corte longitudinal de glándula uropigia del macá tobiano. Se puede observar la cápsula de tejido conectivo denso que rodea a la glándula y el tejido conectivo interalveolar. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.



Figura 50: Detalle de los adenómeros y el tejido conectivo interalveolar de la glándula uropigia del macá tobiano. La flecha muestra las fibras elásticas presentes en el tejido conectivo que rodea a los adenómeros. Orceína 10X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

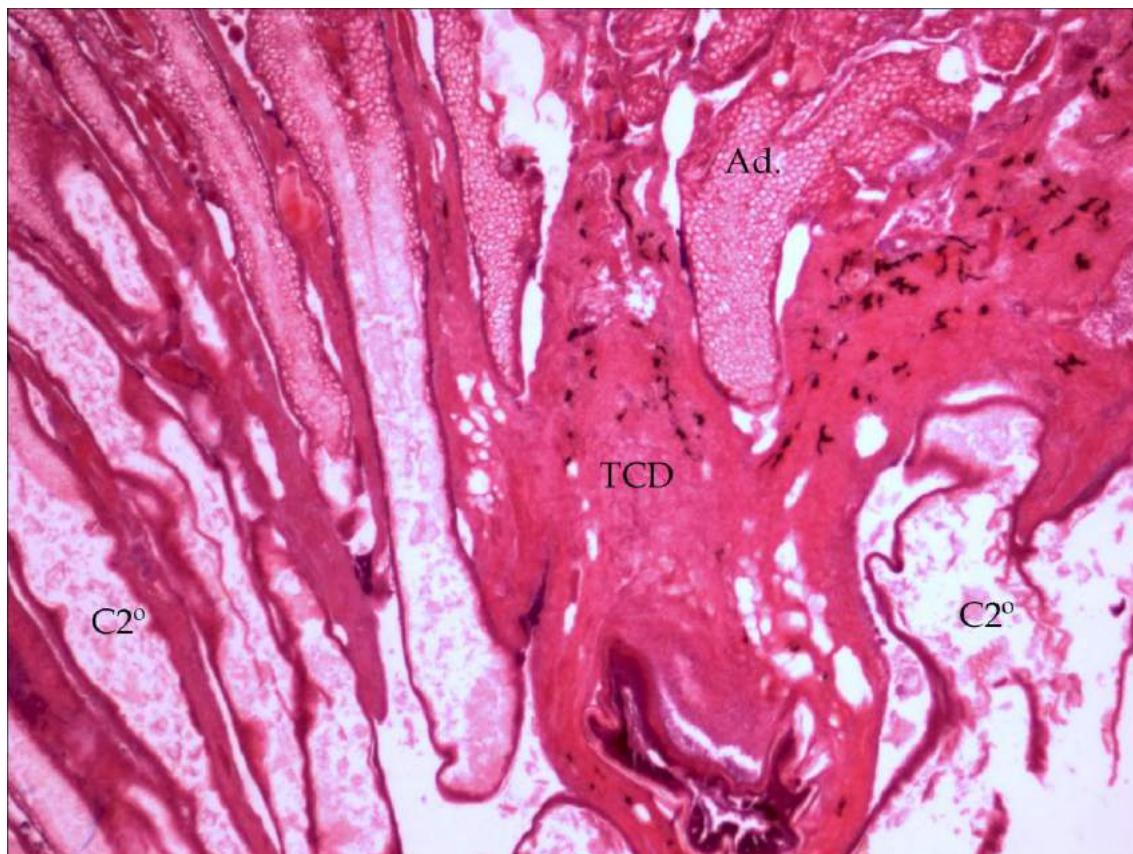


Figura 51: Corte longitudinal de la glándula uropigia del macá tobiano. Se observa el comienzo de las cámaras secundarias. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómero, C2°: cámara secundaria, TCD: tejido conectivo denso.

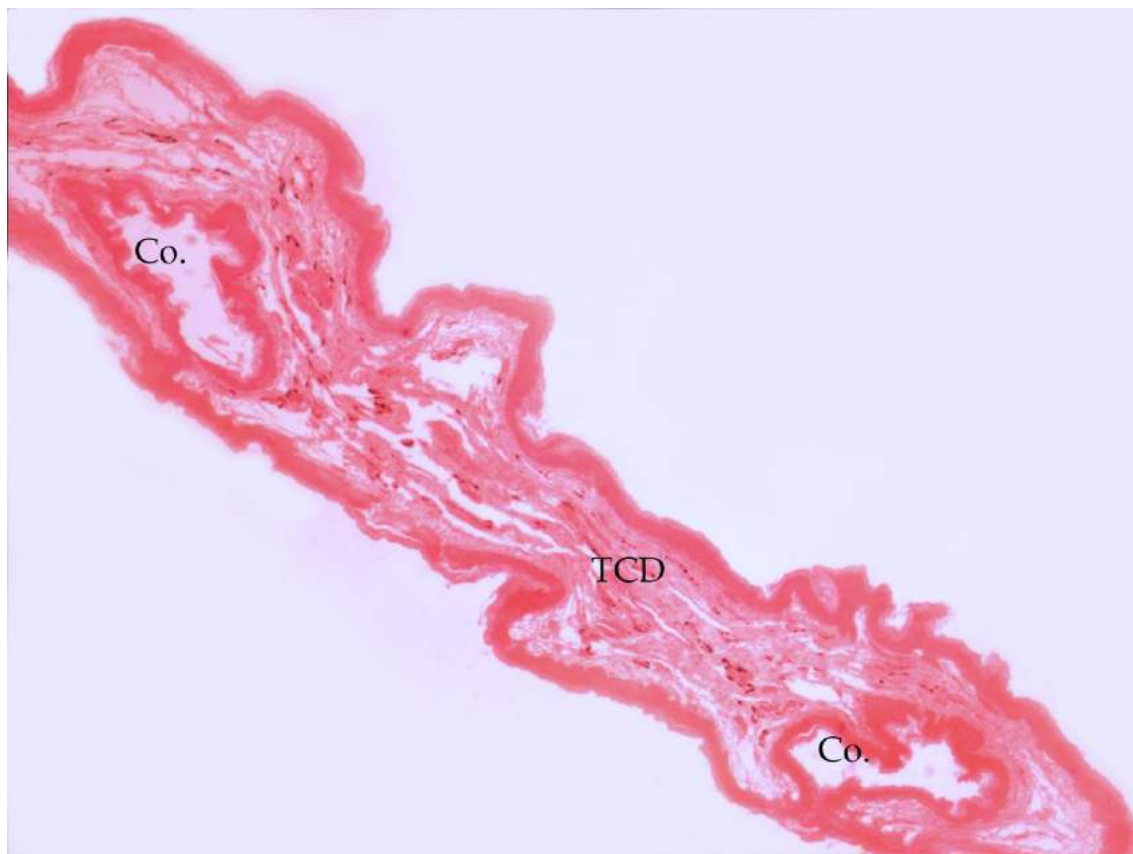


Figura 52: Papila de la glándula uropigia del macá tobiano. Se observan los dos conductos excretores. Hematoxilina-Eosina 4X. Co: conducto excretor, TCD: tejido conectivo denso.

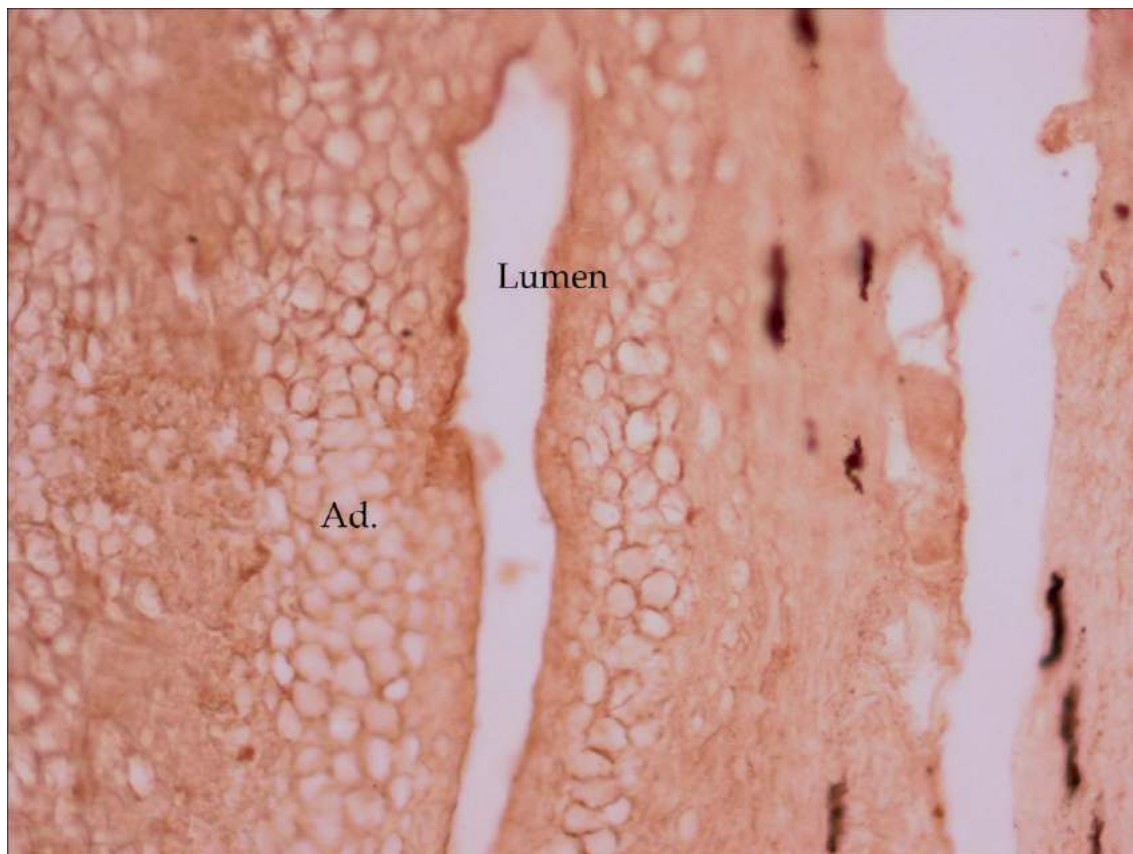


Figura 53: Corte longitudinal de la glándula uropigia del macá tobiano. Lectina RCA-I 20X. Se observa positividad en la capa basal de los adenómeros, la periferia de las células y el estrato degenerativo.

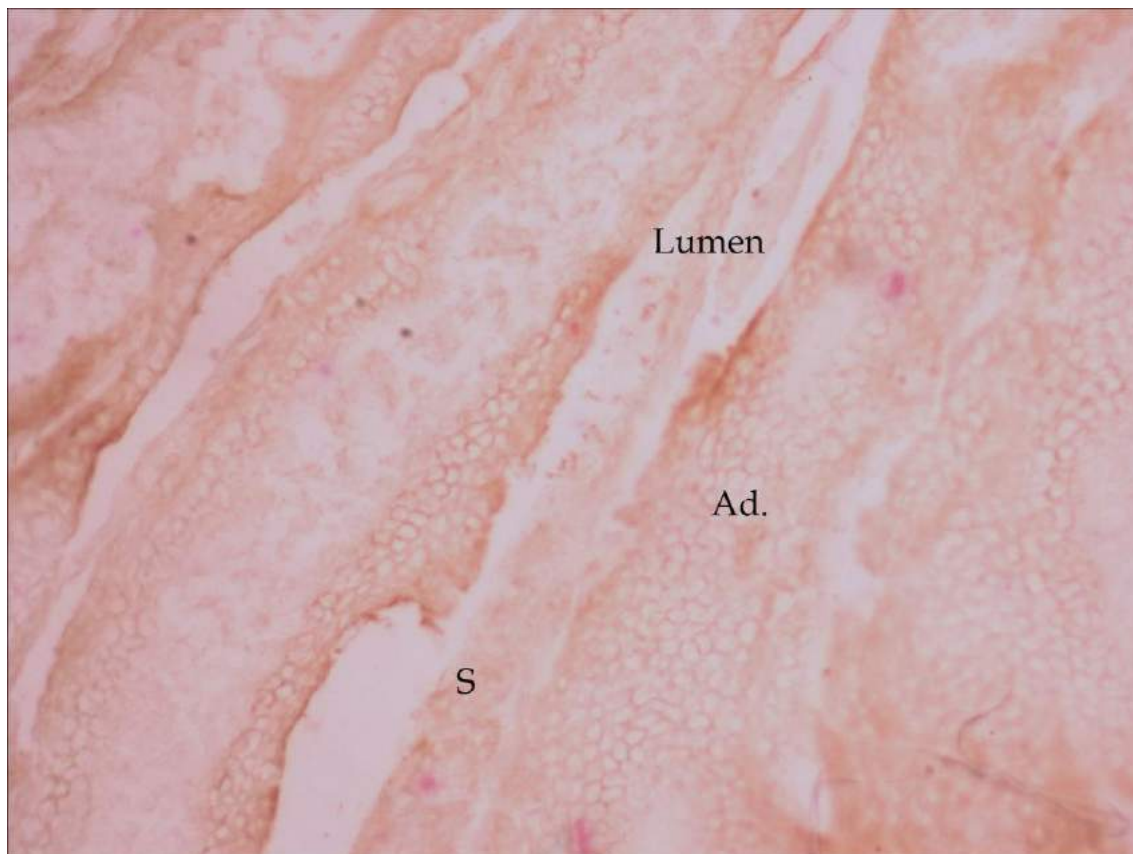


Figura 54: Corte longitudinal de la glándula uropigia del macá tobiano. Lectina WGA 10X. Se observa positividad en la capa basal de los adenómeros, las células en general, estrato degenerativo y secreción uropigial. Ad: adenómero, S: secreción.

FLAMENCO AUSTRAL *Phoenicopterus chilensis*

La glándula uropigia del flamenco austral también presenta dos lóbulos bien diferenciados y una papila corta con abundantes plumas del pincel (Fig. 55). Está rodeada por una gruesa capa de tejido conectivo denso, donde son abundantes las fibras colágenas; también se encuentran fibras elásticas, reticulares y algunas musculares lisas. El tabique interlobular está muy desarrollado y separa por completo los lóbulos (Fig. 56). Tanto desde él como desde la cápsula surgen trabéculas de tejido conectivo que rodean a los adenómeros y contienen, además de fibras colágenas, abundantes fibras elásticas (Fig. 57) y algunas reticulares (Fig. 58). Las células adiposas son escasas en la cápsula y no se observan ni en el tabique ni en el estroma.

Los adenómeros son tubulares, muy ramificados y de recorrido tortuoso. La zona I se caracteriza por tener adenómeros compuestos por una capa en el estrato basal, 2-3 capas de estrato intermedio, 4-5 capas de células secretoras y 2 capas degenerativas, la zona II posee adenómeros con 1 capa de células en el estrato basal, 2 capas de estrato intermedio, 3-4 capas celulares en el estrato secretor y 1-2 capas de estrato degenerativo (Fig. 59) y la zona III con adenómeros caracterizados por poseer 1 capa basal, 1-2 capas intermedias, 2-3 capas de células productoras de secreción y 1-2 capas degenerativas. La luz de los adenómeros es pequeña en la zona I y aumenta hacia la zona III. Los adenómeros de esta última zona confluyen en cámaras secundarias que se dirigen hacia la región de la papila para finalmente terminar en los poros excretores sin que exista una cámara primaria de almacenamiento.

La papila es de tipo corto, posee abundante fibras elásticas y reticulares, células adiposas, vasos sanguíneos, y corpúsculos de Herbst cercanos a los folículos plumosos. Hay entre 6 y 8 conductos excretores por lóbulo (Fig. 60), rodeados por folículos plumosos a manera de corona. Además, se observan folículos plumosos entre los conductos de ambos lóbulos. No se reconocieron fibras musculares alrededor de los poros.

Técnicas histoquímicas

La glándula de esta especie presenta PAS positividad, bien evidente en la membrana basal de los adenómeros y en las capas germinativa e intermedia; también hay una leve marcación en la secreción que se encuentra en el lumen de los adenómeros.

Las técnicas de azul alcían a distintos pHs también son positivas (Tabla 15), lo cual indica la presencia de distintos glicoconjugados (Figs. 61-62), siendo más evidentes las mucinas que poseen grupos carboxilos o ésteres sulfato como componentes de la secreción.

Tabla 15: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia del flamenco austral (*Phoenicopterus chilensis*).

Técnica	Cél. Basales	Células intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	+	-	+
AA pH 0.5	-/+	-	-	+
AA pH 1	+	-	-	-/+
AA pH 2.5	++	+	++	++
AA-PAS	++	+	++	++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcían, AT: azul de toluidina. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

Muchas de las lectinas utilizadas fueron positivas en la glándula uropigia del flamenco austral (Tabla 16), siempre mostrando un patrón homogéneo de positividad en las distintas zonas de división de los lóbulos (Fig. 63-64). La lectina LCA sólo marcó levemente el tejido conectivo. Todas las lectinas que mostraron positividad marcaron intensamente la periferia de las células de los adenómeros.

Tabla 16: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia del flamenco austral (*Phoenicopterus chilensis*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON-A	+++	+++	+++	+++
LCA	-	-	-	-
WGA	++	++	++	+
sWGA	-	-	-	-
LEA	-	-	-	-
SBA	+++	++	++	++
PNA	+++	+++	+++	+++
RCA-I	+++	+++	+++	+++
BSA-I	-	-	-	-
UEA I	++	++	++	++
DBA	-	-	-	-

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++) , reacción fuerte.

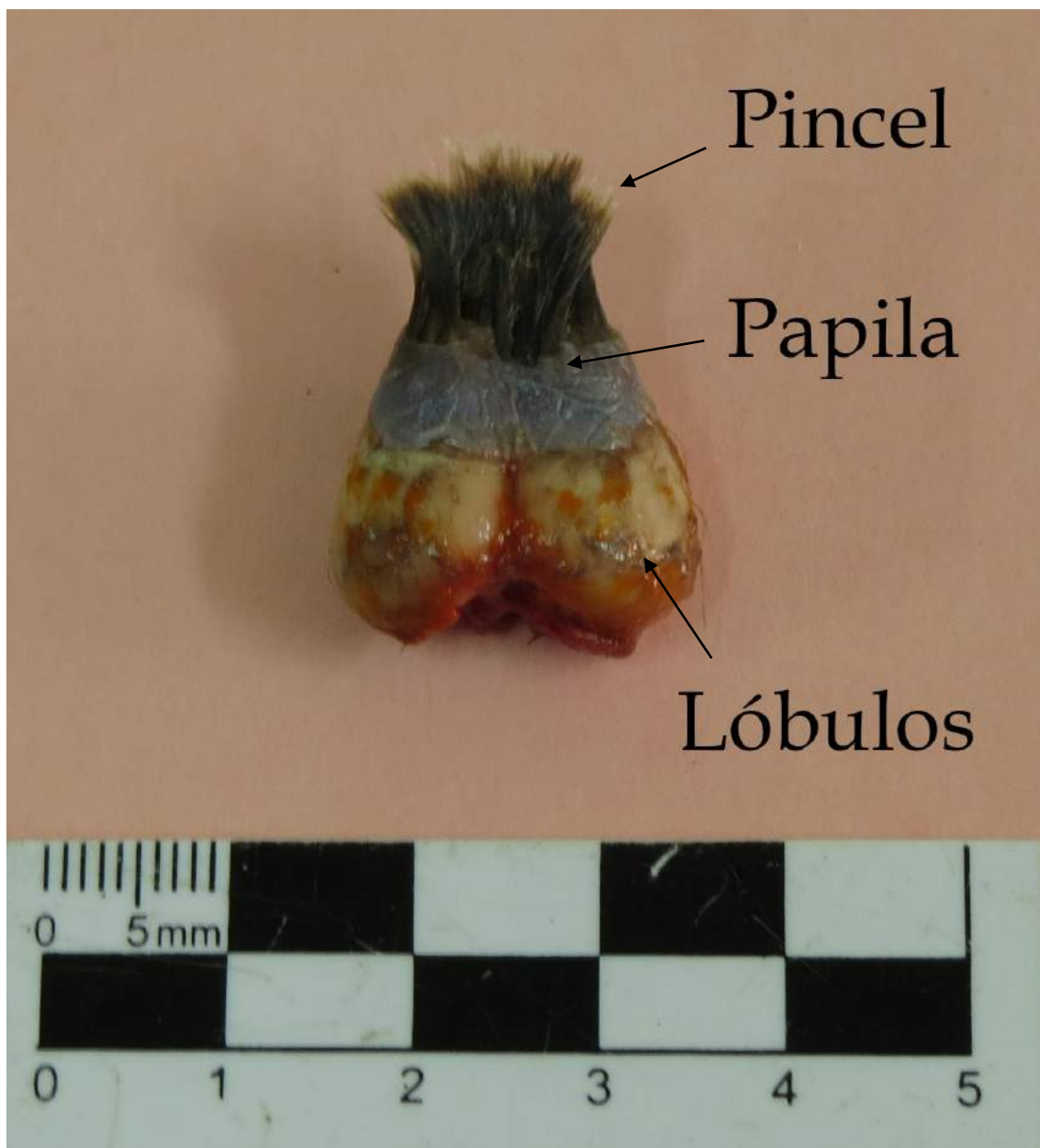


Figura 55: Glándula uropigia del flamenco austral (*Phoenicopterus chilensis*).

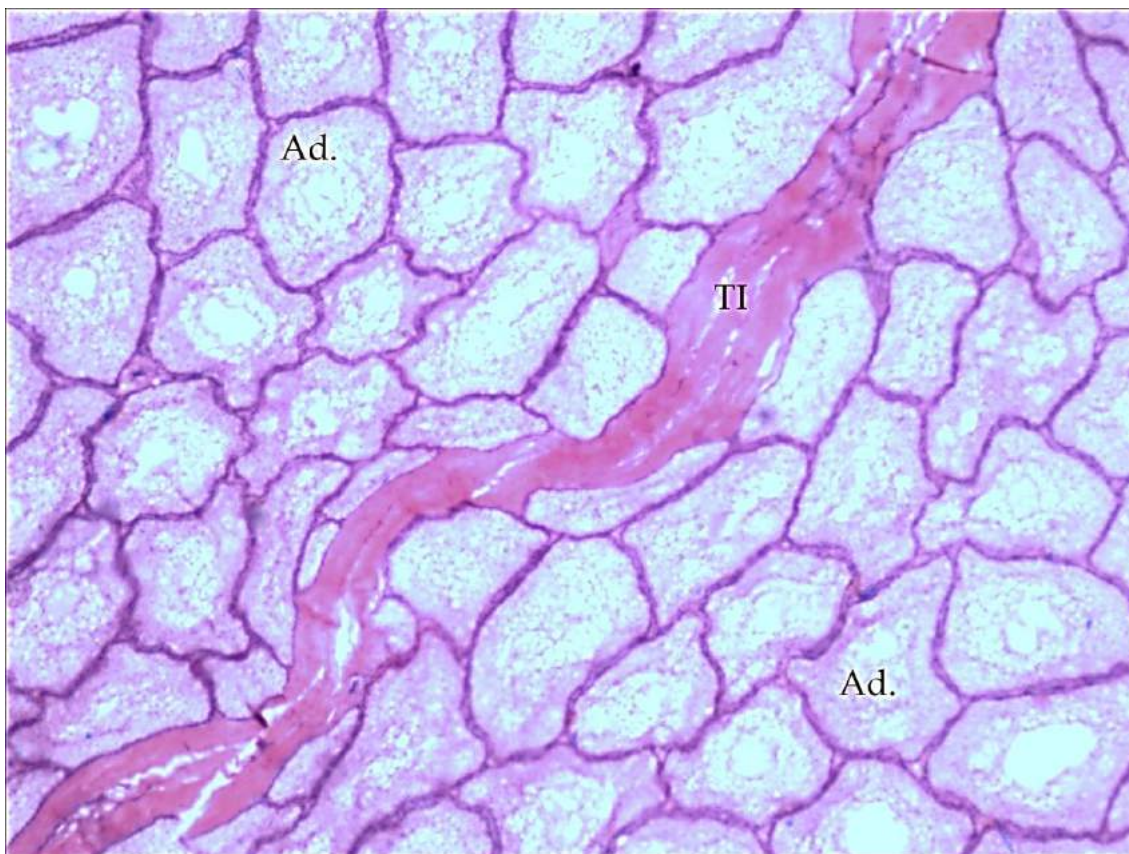


Figura 56: Tabique interlobular de la glándula uropigia del flamenco austral. Se observan los adenómeros de ambos lóbulos hacia los lados del tabique. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómeros, TI: tabique interlobular.

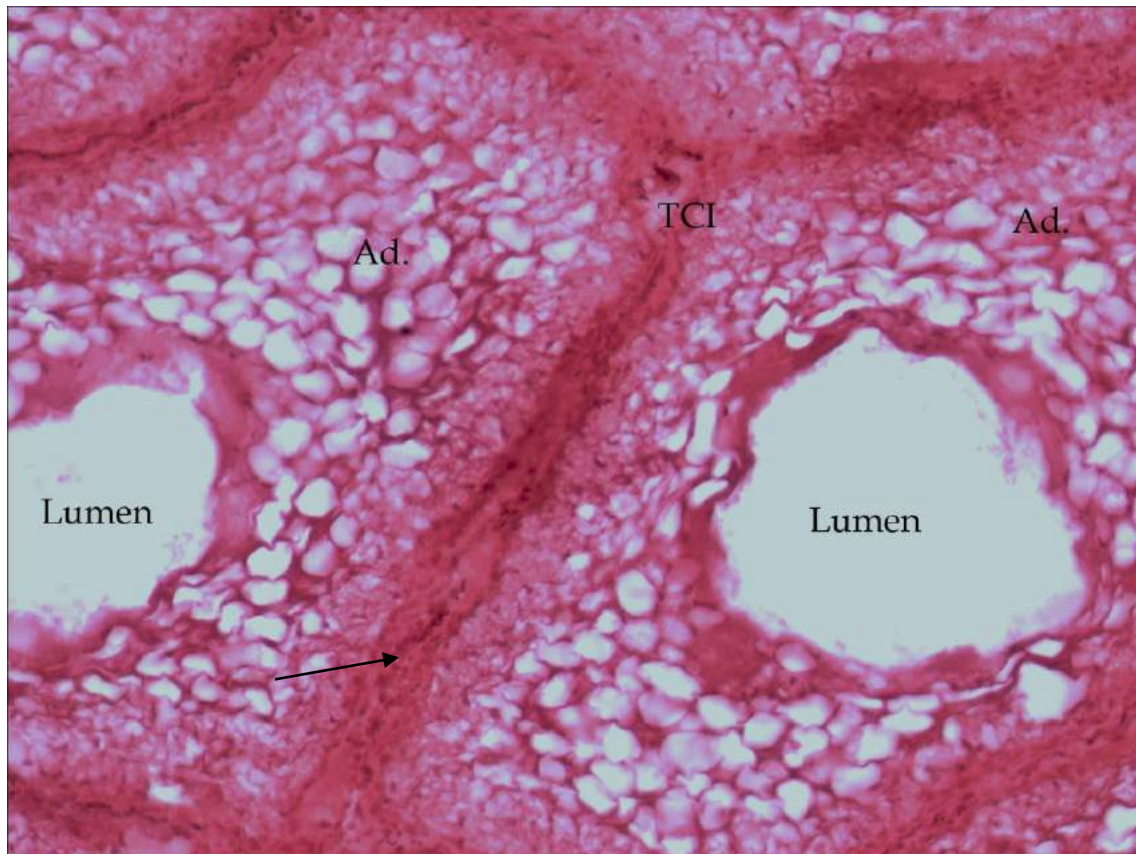


Figura 57: Detalle del tejido conectivo interalveolar, la flecha muestra las fibras elásticas presentes en este tejido. Orceína 20X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

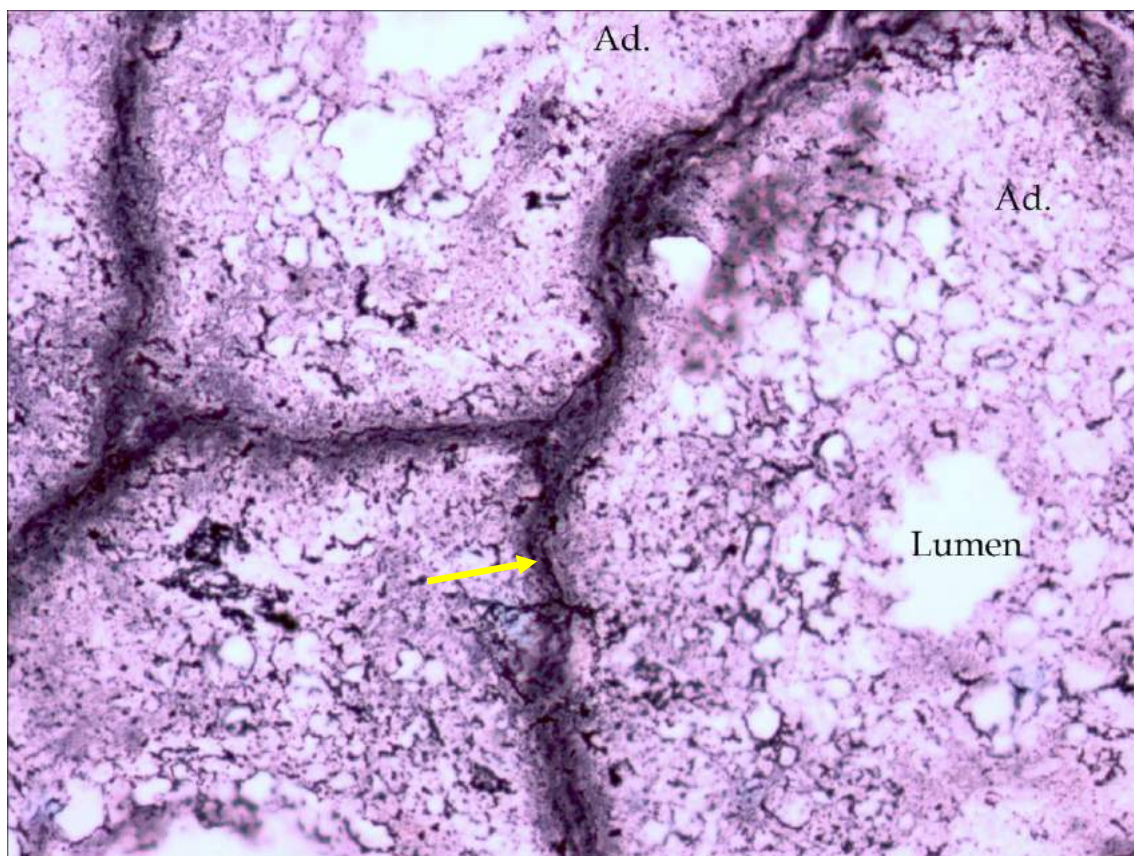


Figura 58: Detalle del tejido conectivo interalveolar, la flecha muestra las fibras reticulares presentes en este tejido. Reticulina de Gomori 20X. Ad: adenómeros.

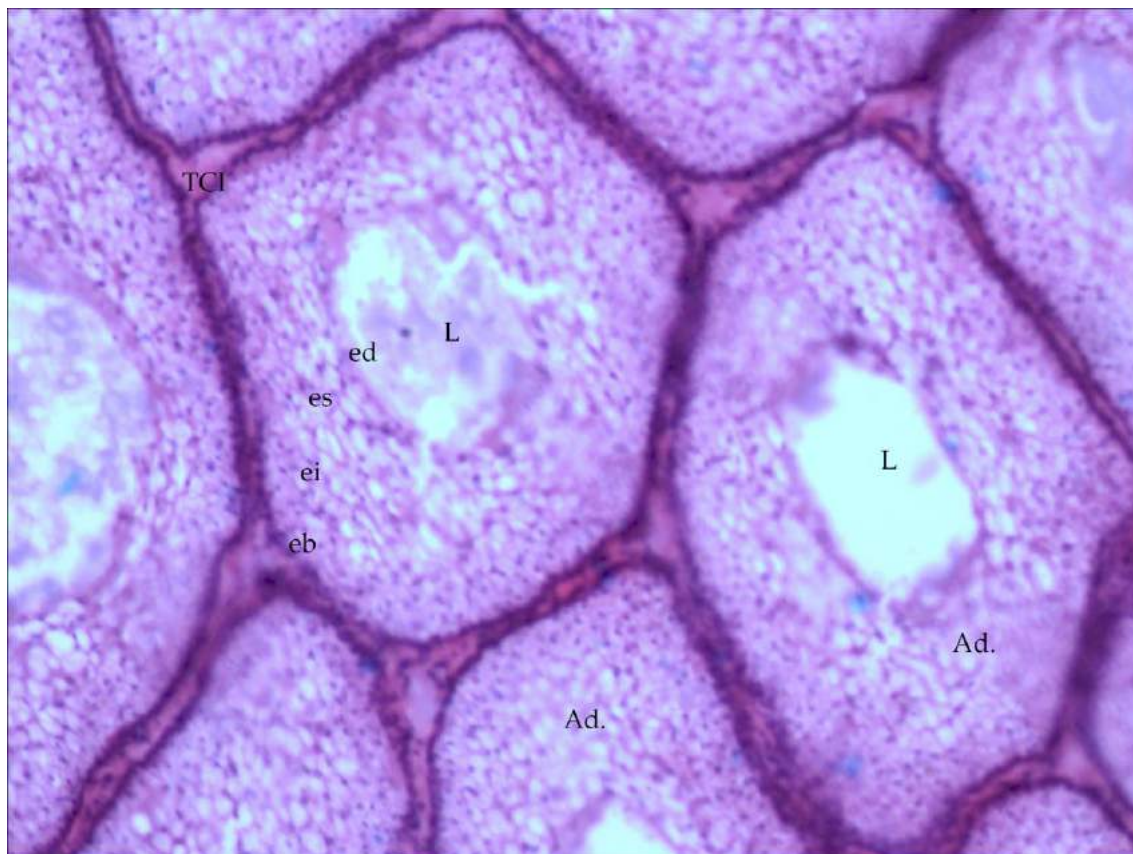


Figura 59: Corte transversal de los adenómeros de la zona II de la glándula uropigia del flamenco austral. Hematoxilina-Eosina 10X. Ad: adenómero, eb: estrato basal, ed: estrato degenerativo, ei: estrato intermedio, es: estrato secretor, TCI: tejido conectivo interalveolar.

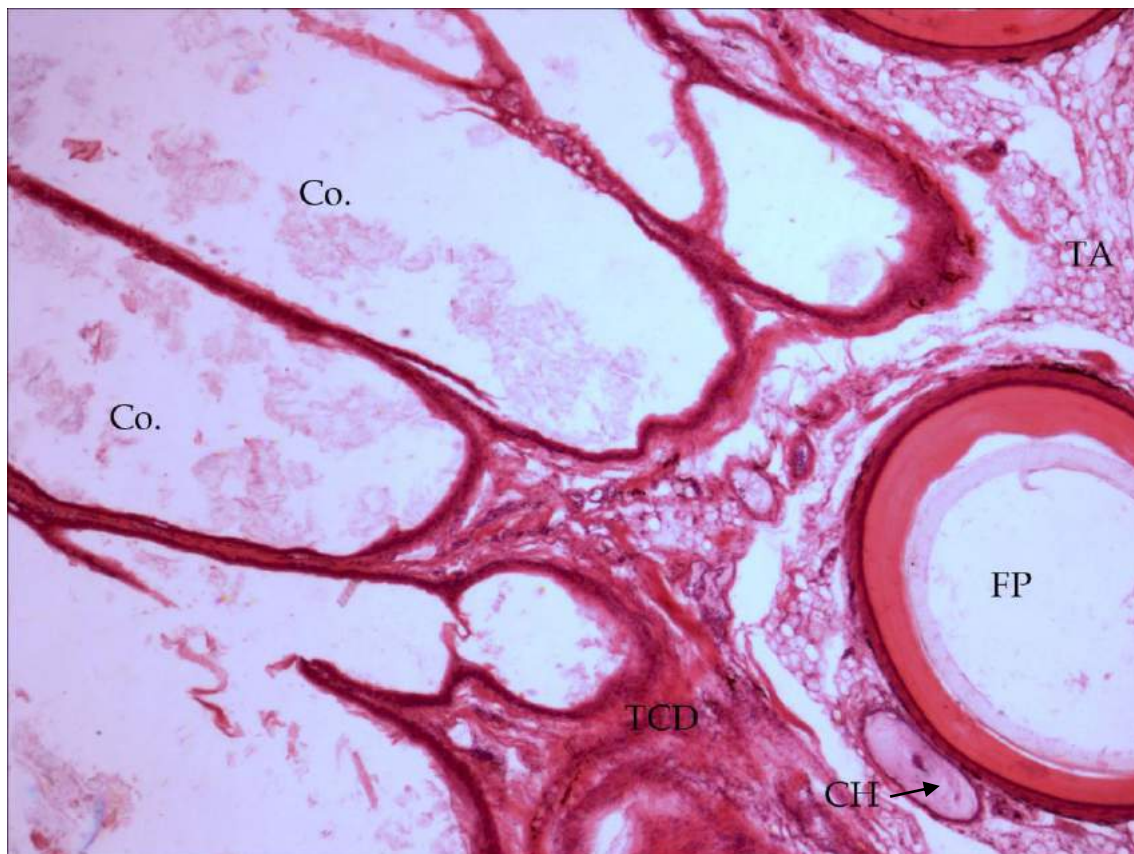


Figura 60: Detalle de la papila de la glándula uropigia del flamenco austral. Hematoxilia-Eosina 4X. Co: conductos, CH, corpúsculo de Herbst, FP: folículo plumoso, TA: tejido adiposo, TCD: tejido conectivo denso.



Figura 61: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia del flamenco austral. Se observa una reacción leve en la secreción uropigial. Azul alcian pH 0.5 20X. Ad: adenómeros, S: secreción.

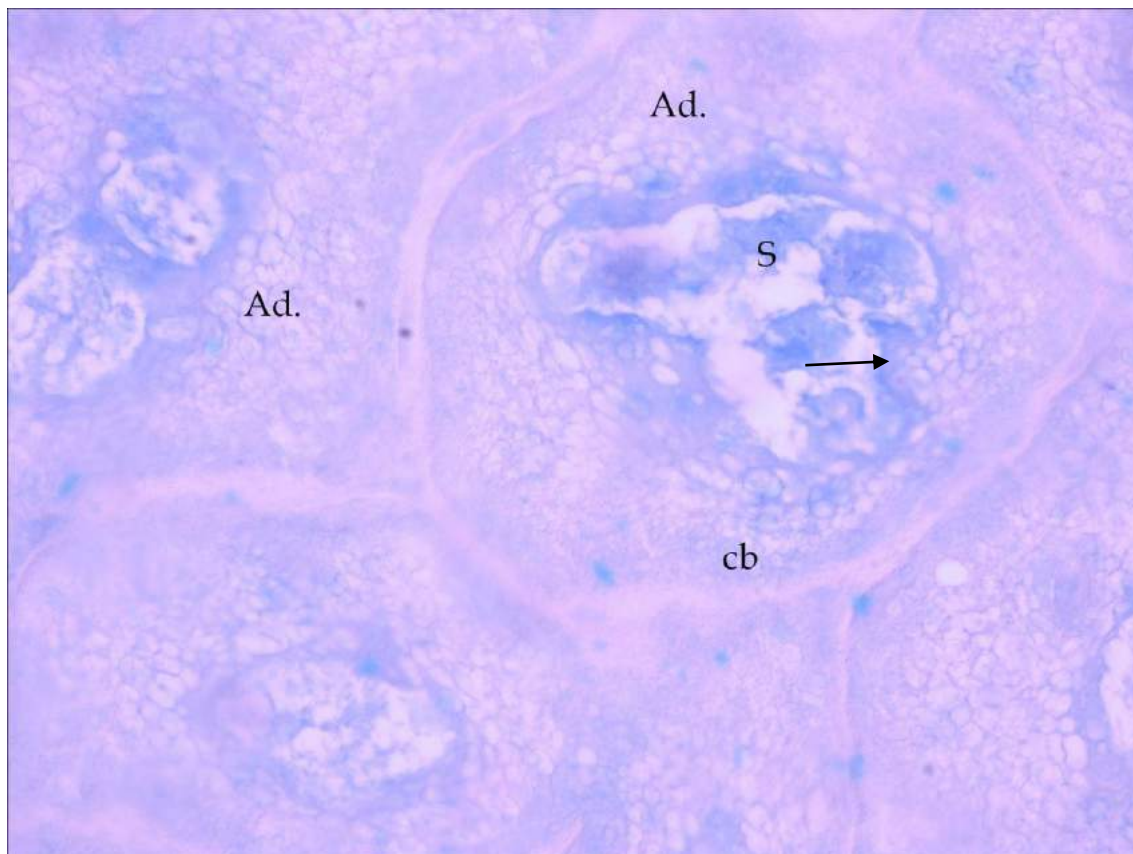


Figura 62: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia del flamenco austral. Se observa positividad en la secreción, estrato degenerativo (flecha) y estrato basal de los adenómeros. Azul alcian pH 2.5. Ad: adenómeros, cb: capa basal, S: secreción.

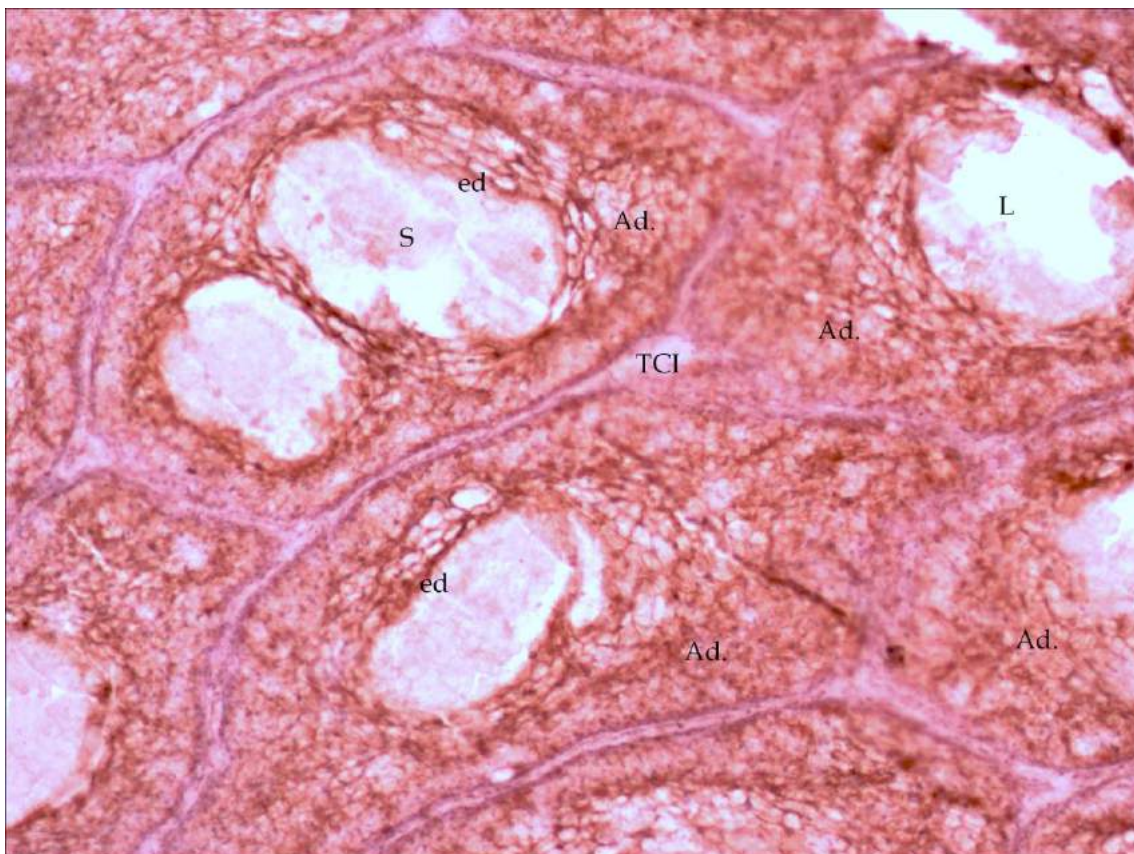


Figura 63: Adenómeros de la glándula uropigia del flamenco austral. Lectina PNA 10X. Ad: adenómeros, ed: estrato degenerativo, L: lumen, S: secreción.

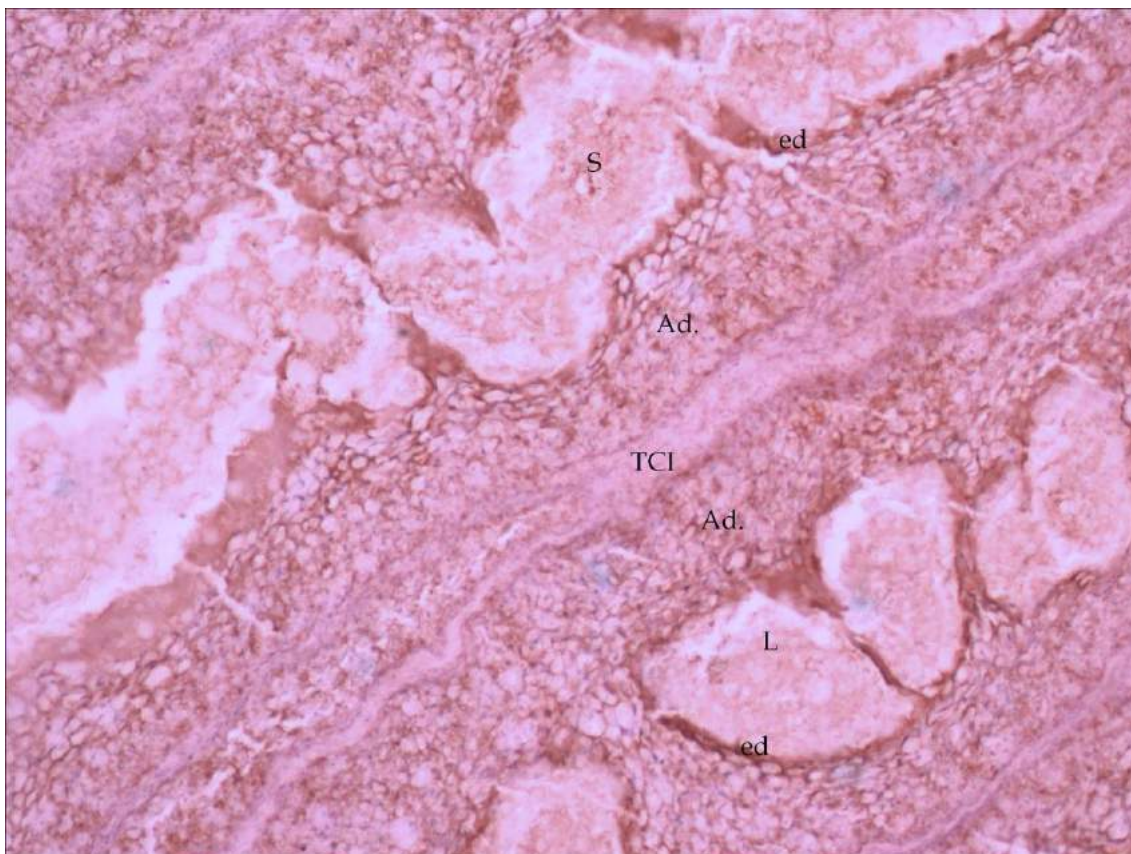


Figura 64: Corte longitudinal de los adenómeros de la glándula uropigia del flamenco austral. Lectina WGA 10X. Ad: adenómeros, ed: estrato degenerativo, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

BIGUÁ *Phalacrocorax brasilianus*

La glándula uropigia en esta especie está formada por dos lóbulos bien diferenciados y una papila corta con un pincel de plumas desarrollado que rodea a los poros excretores (Fig. 65).

En su cara externa, la glándula uropigia del biguá está rodeada por una gruesa capa de tejido conectivo denso, a partir de la cual parten tabiques de tejido conectivo que rodean grandes zonas de adenómeros que forman estructuras de aspecto lobulillar (Fig. 66). Entre los adenómeros es posible visualizar finos haces de tejido conectivo. El tabique interlobular surge de la cápsula externa, es completo y bien desarrollado (Fig. 67). Tanto la cápsula como el tabique y el tejido conectivo que rodea a los adenómeros presentan fibras elásticas (Fig. 68) y reticulares.

Los adenómeros son tubulares, están muy ramificados y su recorrido es tortuoso. Es posible diferenciar las tres zonas en las que se divide un lóbulo; en la zona I, los adenómeros poseen 1 capa de células en el estrato basal, 2 capas en el estrato intermedio, 4-5 capas de células en el estrato secretor y 1-2 capas en el estrato degenerativo. La zona II se caracteriza por tener adenómeros compuestos por 1 capa basal, 1-2 intermedias, 3 capas de células secretoras y entre 1 y 2 capas de estrato degenerativo, y en la zona III, el epitelio de los adenómeros tiene 1 capa de estrato basal, 1 en el estrato intermedio, 2 capas secretoras y 1-2 capas de estrato degenerativo. Los adenómeros de esta última zona convergen en grandes cavidades secundarias revestidas por un epitelio plano estratificado cornificado sin células secretorias (Fig. 69). El estroma que rodea estas cavidades es muy desarrollado y presenta fibras colágenas, reticulares y elásticas. El lumen de los adenómeros aumenta hacia la zona III y es muy amplio en las cavidades secundarias. No se encontraron cavidades primarias.

En la región de la papila existen entre 6 y 8 poros excretores por lóbulo, rodeados por abundantes folículos plumosos (Fig. 70). El tejido conectivo es abundante y rico en fibras colágenas, con presencia de fibras elásticas. Los vasos sanguíneos y las células adiposas son abundantes. La papila corresponde al tipo corto de la clasificación de Jacob & Ziswiler (1982).

Técnicas histoquímicas

Las técnicas de PAS y azul alcían a distintos pHs marcaron positivamente el estrato germinativo, degenerativo y la secreción de la glándula uropigia del biguá (Tabla 17) (Fig. 71).

Tabla 17: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia del biguá (*Phalacrocorax brasilianus*).

Técnica	Cél. Basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	-	-	+
AA pH 0.5	+	-	-	-/+
AA pH 1	+	-	-	-/+
AA pH 2.5	++	-	-	++
AA-PAS	++	-	+	++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcían, AT: azul de toluidina. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

Se encontró positividad para algunas lectinas (Tabla 18). Las lectinas PNA y RCA-I marcaron levemente las células de los adenómeros pero la capa degenerativa que da origen a la secreción uropigial reaccionó más intensamente.

Tabla 18: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia del biguá (*Phalacrocorax brasilianus*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
WGA	-	-	-	-
sWGA	-	-	-	-
SBA	++	++	++	+ / ++
PNA	+	+	+	++
RCA-I	+	+	+	++
UEA I	-	-	-	-

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

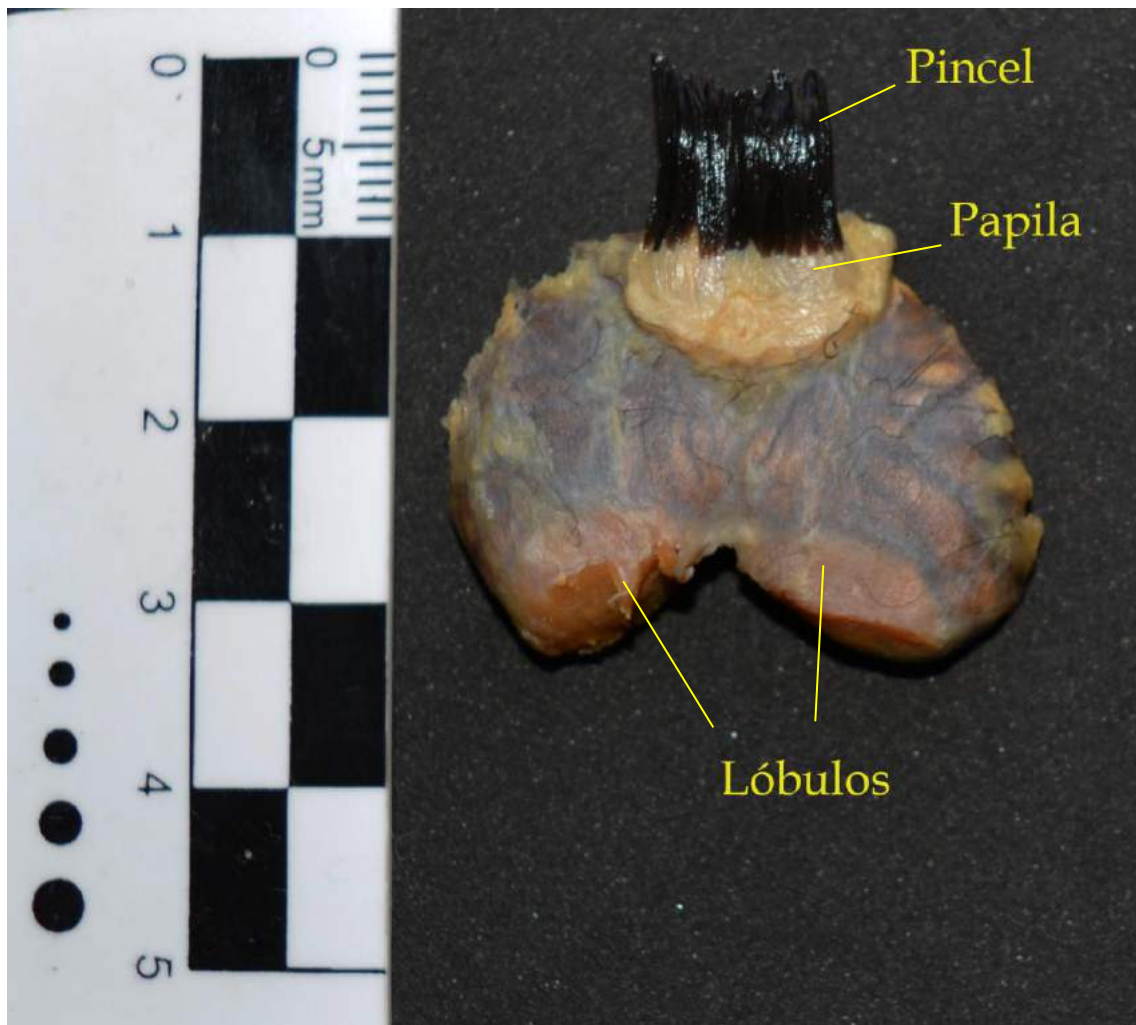


Figura 65: Aspecto externo de la glándula uropigia del biguá (*Phalacrocorax brasilianus*).



Figura 66: Glándula uropigia del biguá. Se observan ambos lóbulos, rodeados por una cápsula de tejido conectivo denso y el tabique que separa ambos lóbulos (flecha). Tricrómico de Gomori 4X.



Figura 67: Detalle del tabique interlobular de la glándula uropigia del biguá. La flecha marca el tejido conectivo que rodea a los adenómeros. Tricrómico de Gomori 10X. Ad: adenómeros, VS: vaso sanguíneo.

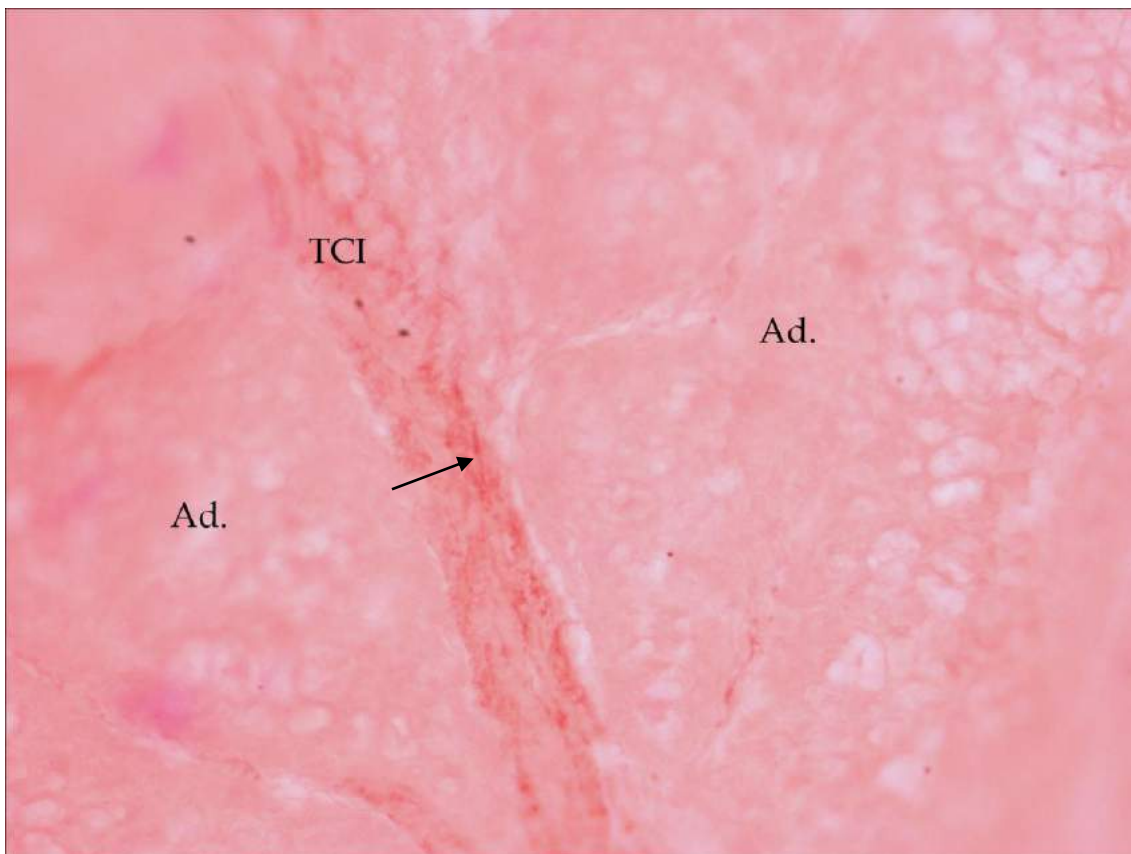


Figura 68: Detalle del tejido conectivo interalveolar, la flecha muestra fibras elásticas presentes en este tejido. Orceína 20X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

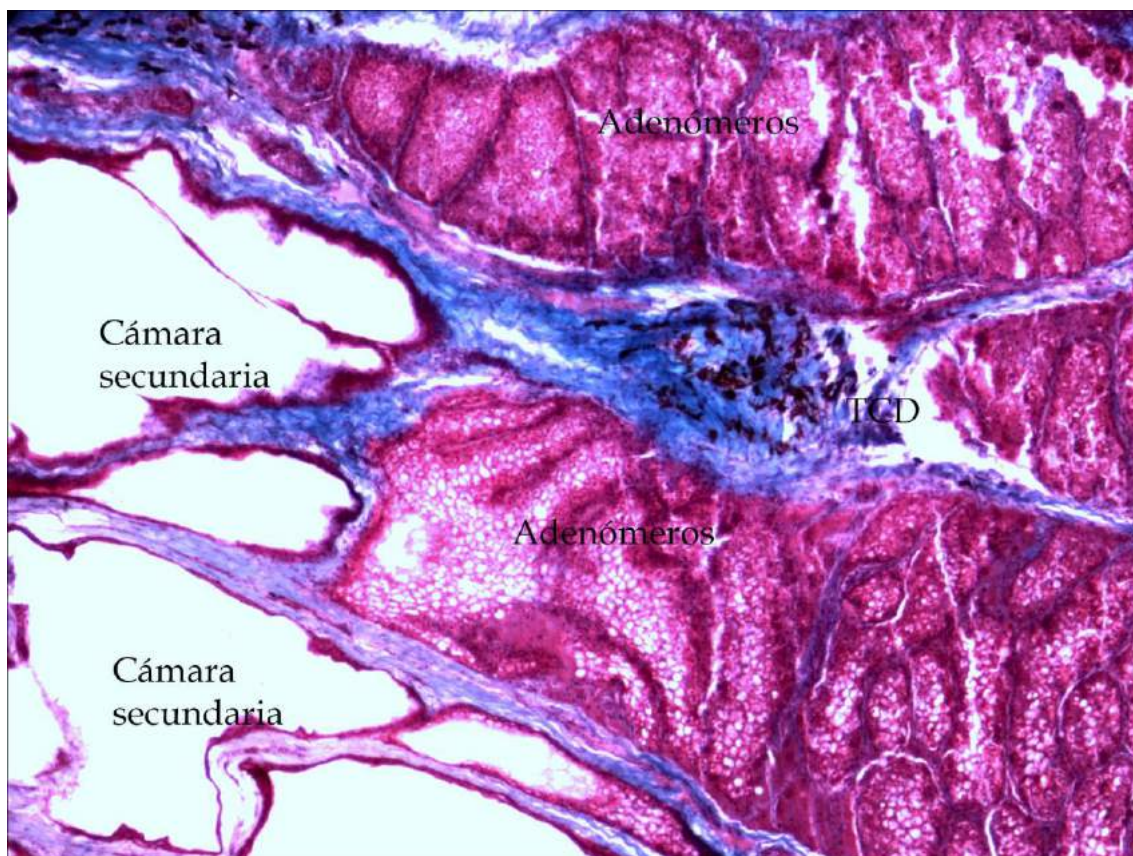


Figura 69: Detalle de las cámaras secundarias de la glándula uropigia del biguá. Tricrómico de Gomori 4X. TCD: tejido conectivo denso.

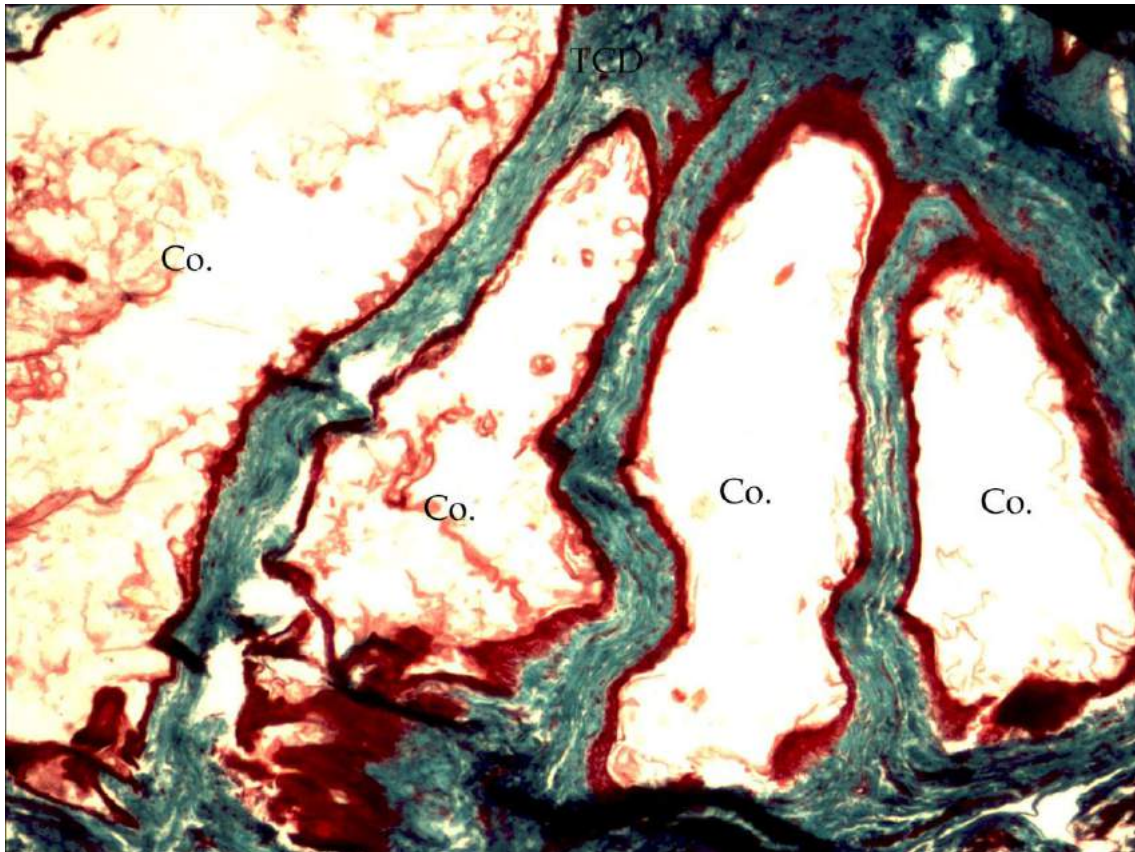


Figura 70: Detalle de los conductos excretores de la glándula uropigia del biguá. Tricrómico de Gomori 4X. Co: conductos excretores, TCD: tejido conectivo denso.

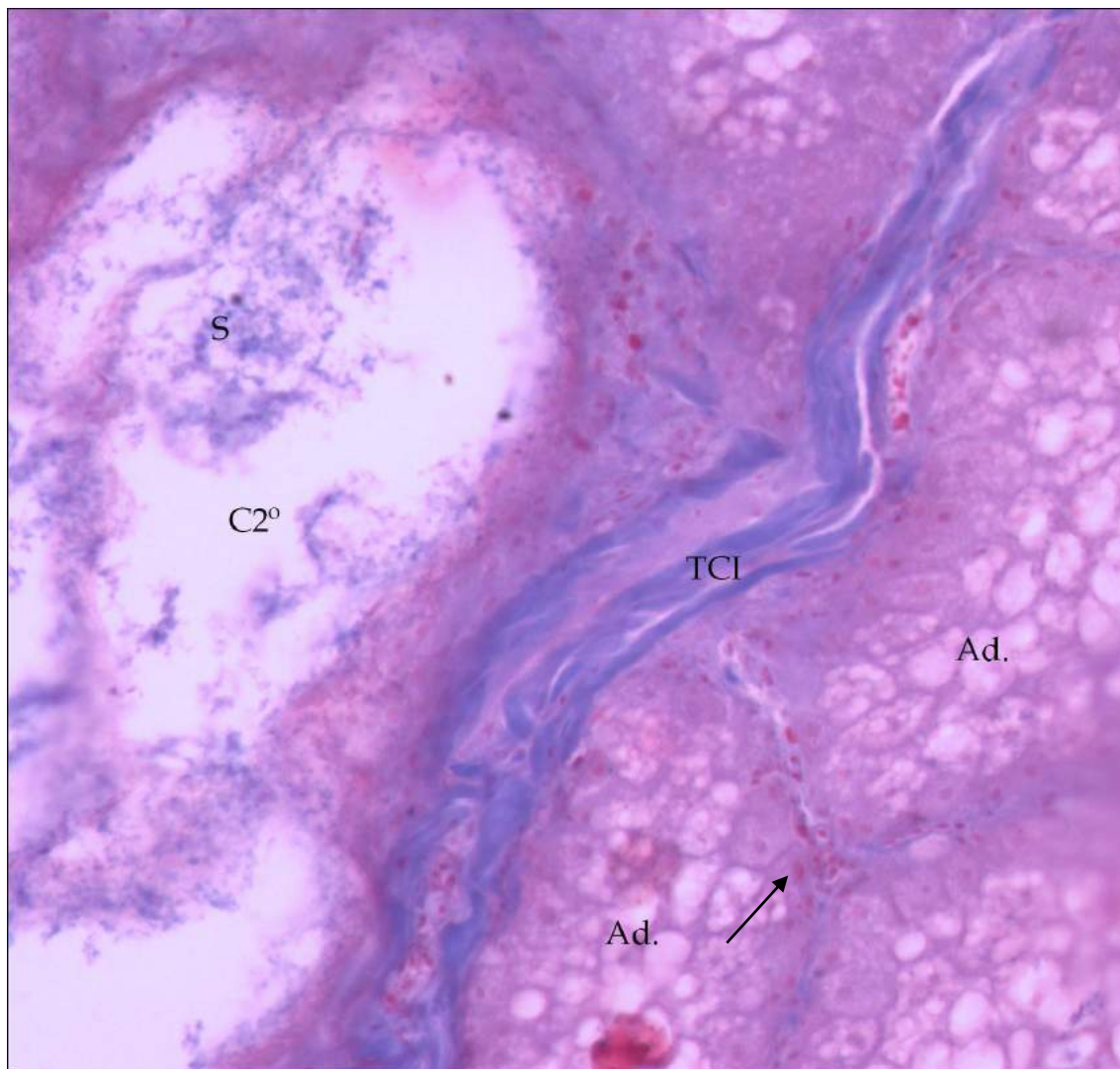


Figura 71: Detalle de la glándula uropigia del biguá. La flecha marca el estrato basal positivo para AA-PAS. AA-PAS 20X. Ad: adenómeros, C2°: cámara secundaria, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

Capítulo VI

Histología de la glándula uropigia en aves terrestres



RESULTADOS

Aves terrestres

LECHUCITA DE LAS VIZCACHERAS *Athene cunicularia*

Esta especie posee una glándula uropigia formada por dos lóbulos y una papila cilíndrica y desnuda (por la ausencia de pincel de plumas) (Fig. 72).

La glándula está rodeada por una delgada cápsula de tejido conectivo denso formado por fibras colágenas y reticulares (Fig. 73). Desde la cápsula surge el tabique que separa ambos lóbulos y delgadas ramas que se disponen rodeando los adenómeros (Fig. 74).

El parénquima está compuesto por adenómeros tubulares ramificados en la periferia de la glándula. Sólo pueden observarse dos zonas, la zona I con adenómeros que poseen un lumen pequeño y epitelio muy estratificado (Fig. 75) y la zona III presenta adenómeros con luz amplia y epitelio más bajo. A partir de esta zona, los adenómeros confluyen en conductos secundarios que desembocan en una gran cavidad primaria de almacenamiento (Fig. 76).

La papila es de tipo delicado, posee abundante tejido conectivo y dos poros excretores por lóbulo (Fig. 77). El epitelio de estos conductos externos es plano estratificado cornificado.

Técnicas histoquímicas

Es posible observar PAS positividad en la membrana basal de los adenómeros y en el estrato basal de todas las zonas (Fig. 78), la secreción también reacciona frente a esta técnica.

La técnica de azul alcian a distintos pHs muestra una marcación en las células del estrato germinativo de todas las zonas pero en el resto de los estratos ésta marcación se vuelve débil (Fig. 79). La secreción es positiva en todos los pHs utilizados (Tabla 19).

Tabla 19: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia de *Athene cunicularia*.

Técnica	Cel. Basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	-	+	++
AA pH 0.5	++	+	+	++
AA pH 1	++	+	+	++
AA pH 2.5	++	+	+	+++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcian. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

Es posible observar positividad para varias de las lectinas analizadas (Tabla 20), esta marcación se observó en los estratos germinativos de todas las zonas, en los adenómeros en general y en la secreción uropigial (Figs. 80-82).

Tabla 20: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras (*Athene cunicularia*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	++	++	++	++
LCA	-	-	-	-
WGA	+	+	+	+
sWGA	+	+	+	+
DBA	-	-	-	-
RCA-I	+++	+++	+++	+++
BSA-I	-	-	-	-
UEA I	++	++	++	++

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Técnicas inmunohistoquímicas

Fue posible diferenciar una sola capa de células germinativas en el estrato basal de los adenómeros mediante PCNA y se observó la positividad del epitelio frente a CK.



Figura 72: Glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras (*Athene cunicularia*).

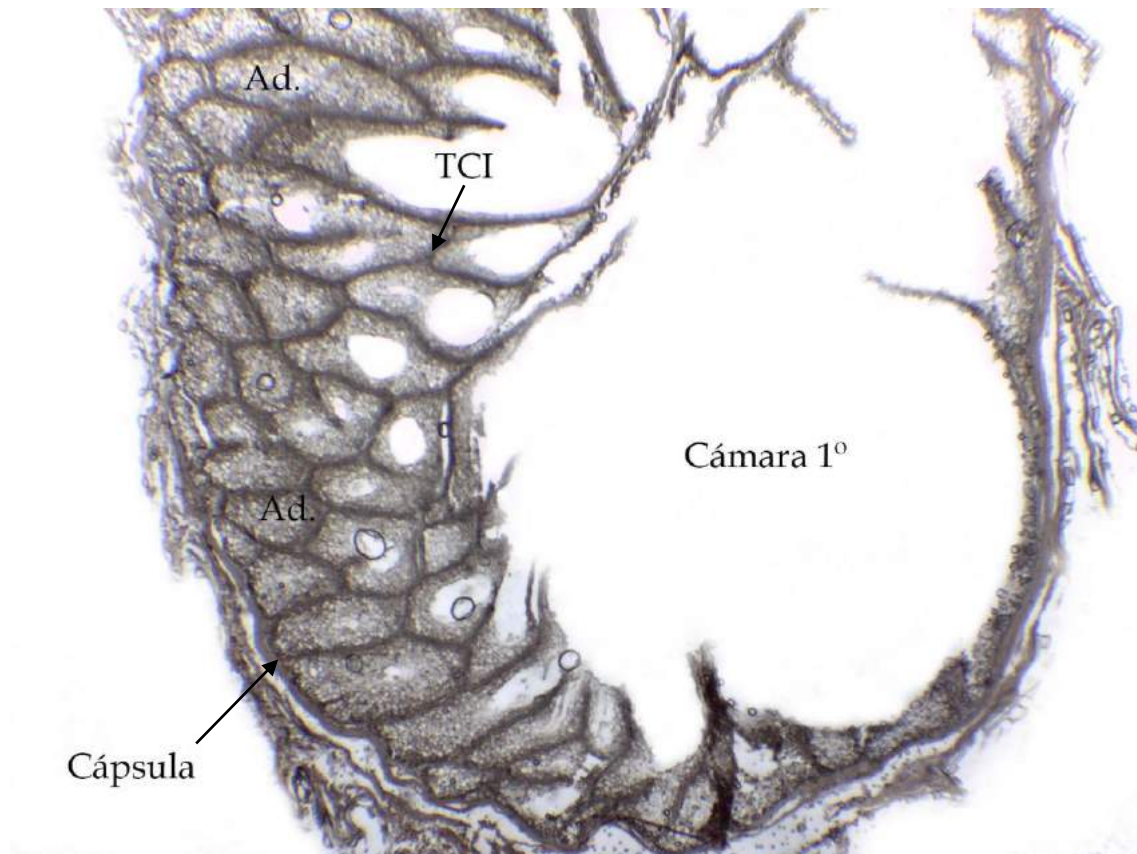


Figura 73: Corte transversal de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Se puede observar la presencia de una amplia cámara primaria de almacenamiento. Reticulina de Gomori 4X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

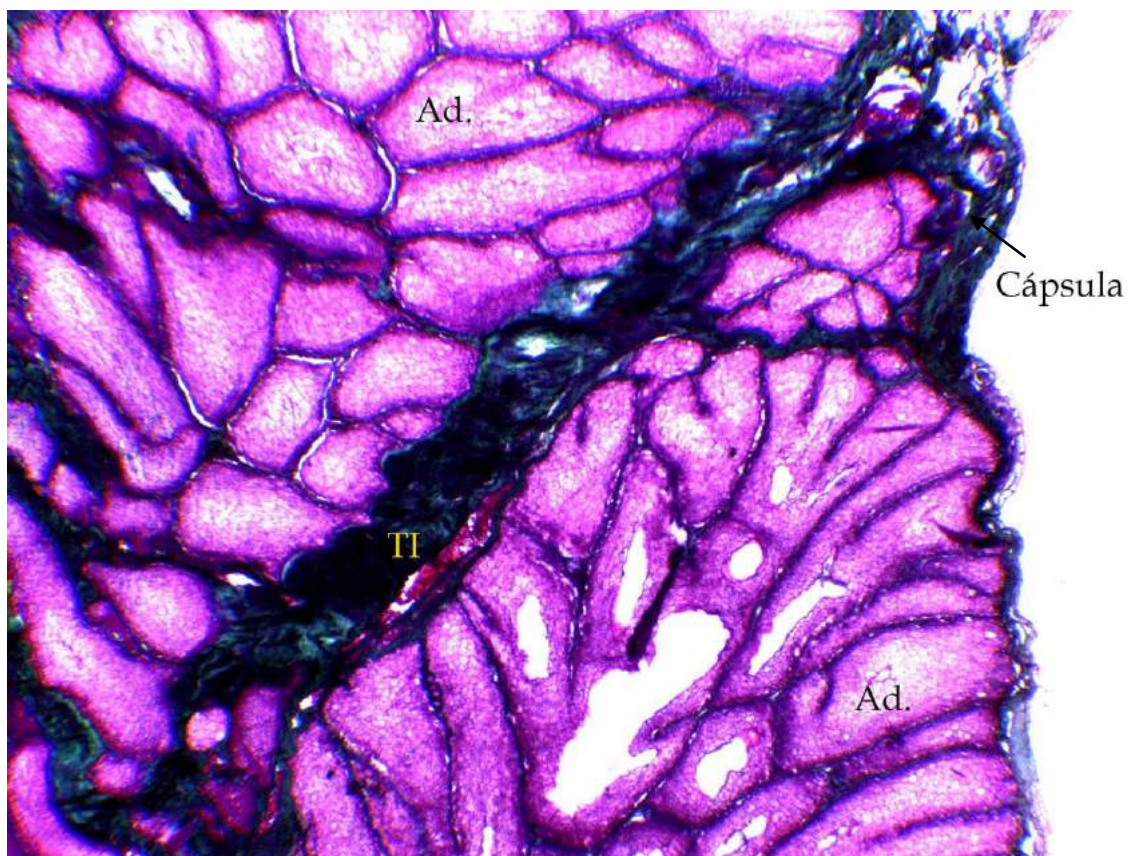


Figura 74: Corte longitudinal de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Se puede observar el tabique interlobular surgiendo a partir de la cápsula que rodea a la glándula. Tricrómico de Gomori 4X. Ad: adenómeros, TI: tabique interlobular.

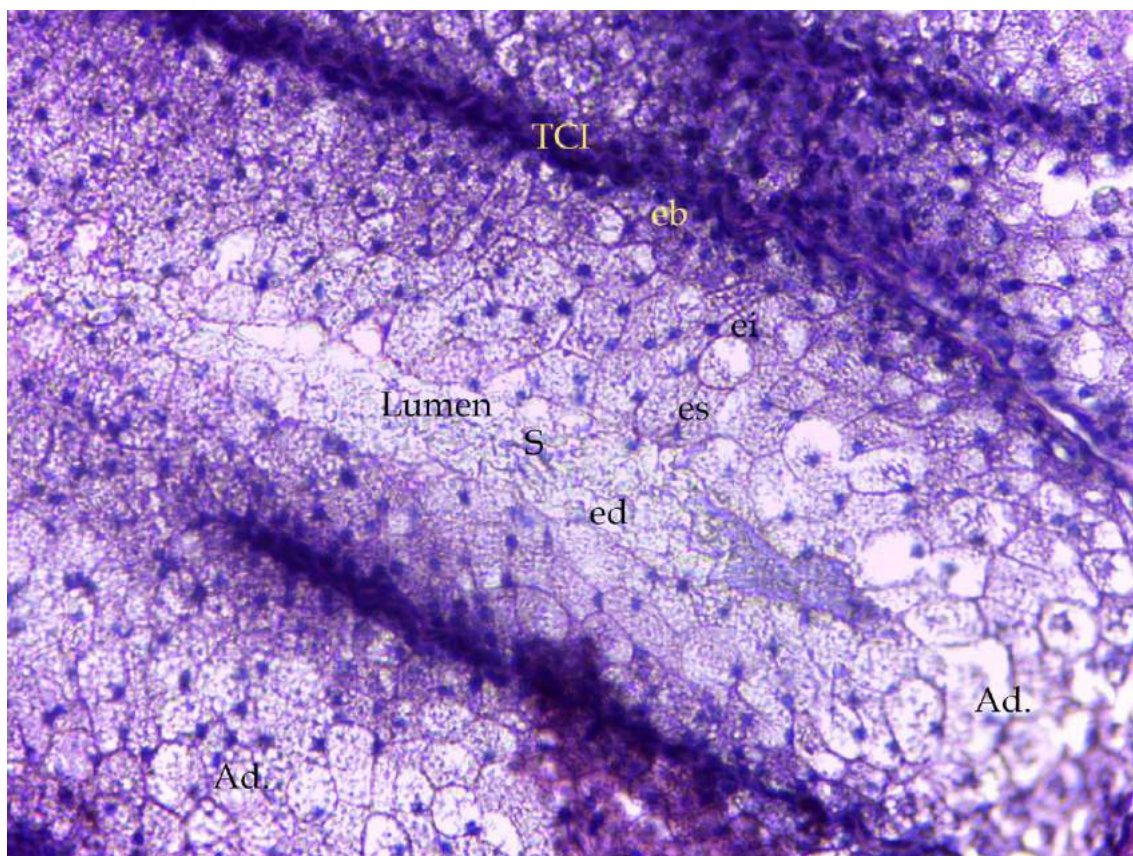


Figura 75: Corte longitudinal de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Se observa el tejido conectivo interalveolar que separa los adenómeros. También se reconocen los diferentes estratos celulares que componen el epitelio de los adenómeros. Hematoxilina-Eosina 40X. Ad: adenómeros, eb: estrato basal, ed: estrato degenerativo, ei: estrato intermedio, es: estrato secretorio, TCI: tejido conectivo interalveolar.

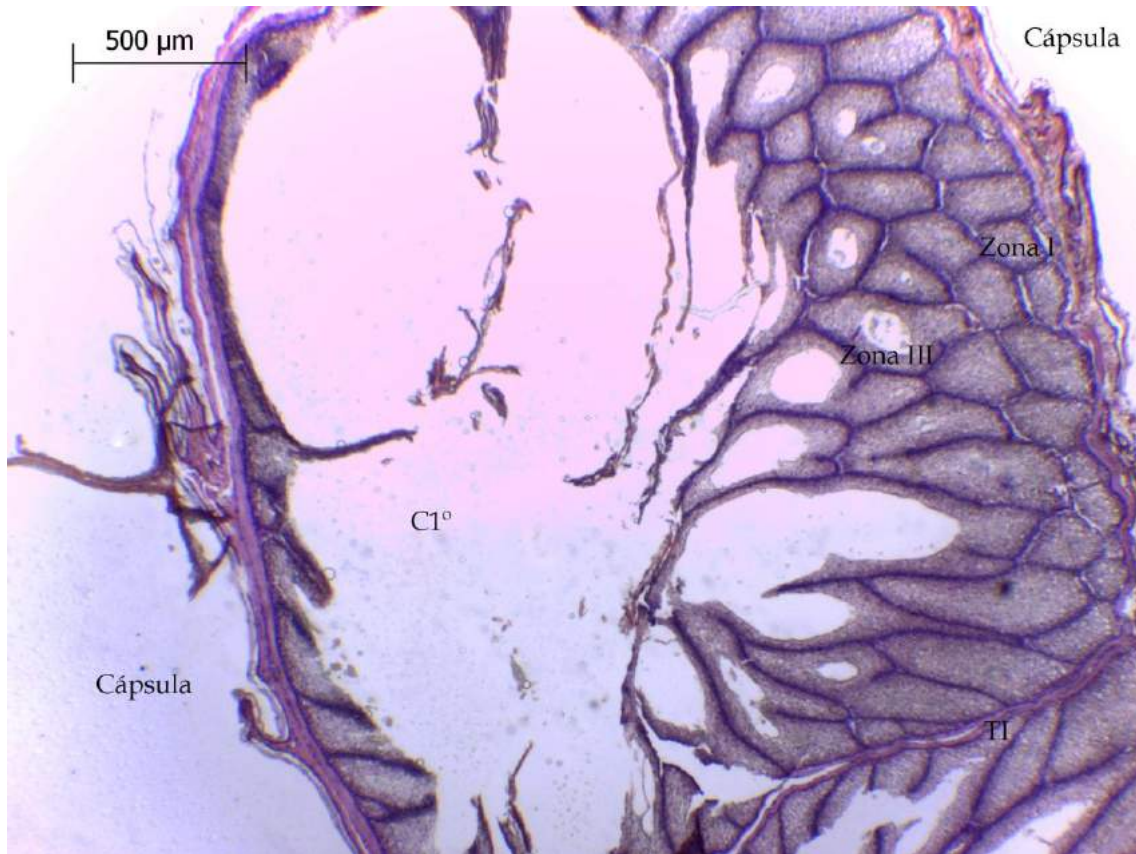


Figura 76: Corte transversal de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Se observan las dos zonas en las que se dividen los adenómeros y la presencia de una gran cámara primaria de almacenamiento. Hematoxilina-Eosina 4X. C1°: cámara primaria, TI: tabique interlobular.

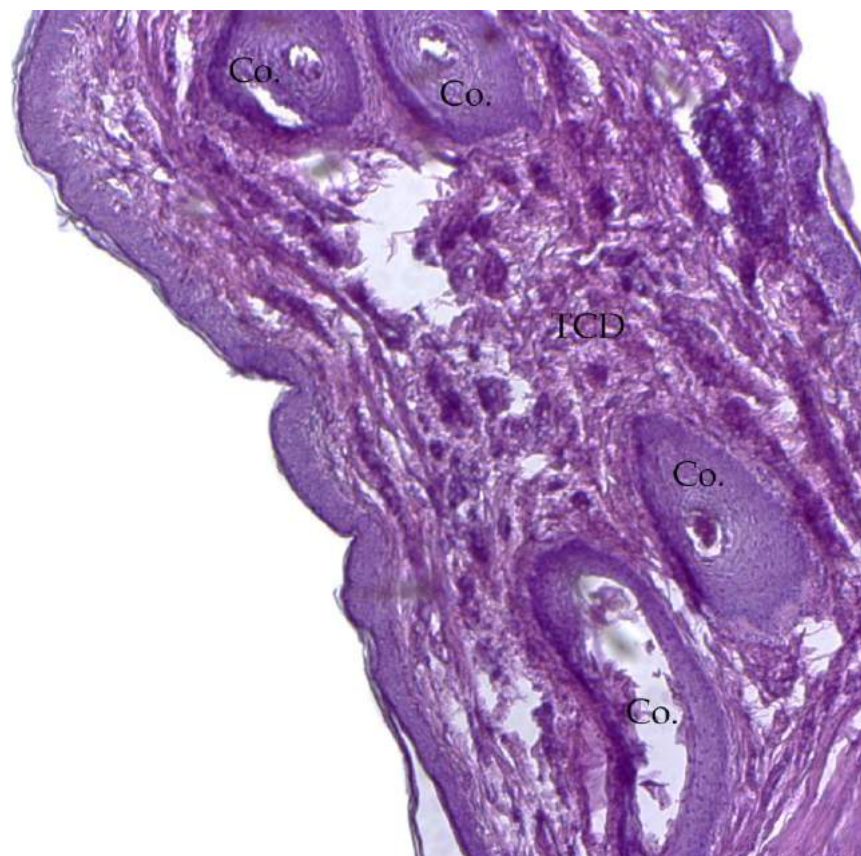


Figura 77: Corte transversal a nivel de la papila de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Hematoxilina-Eosina 4X. Co: conductos, TCD: tejido conectivo denso.

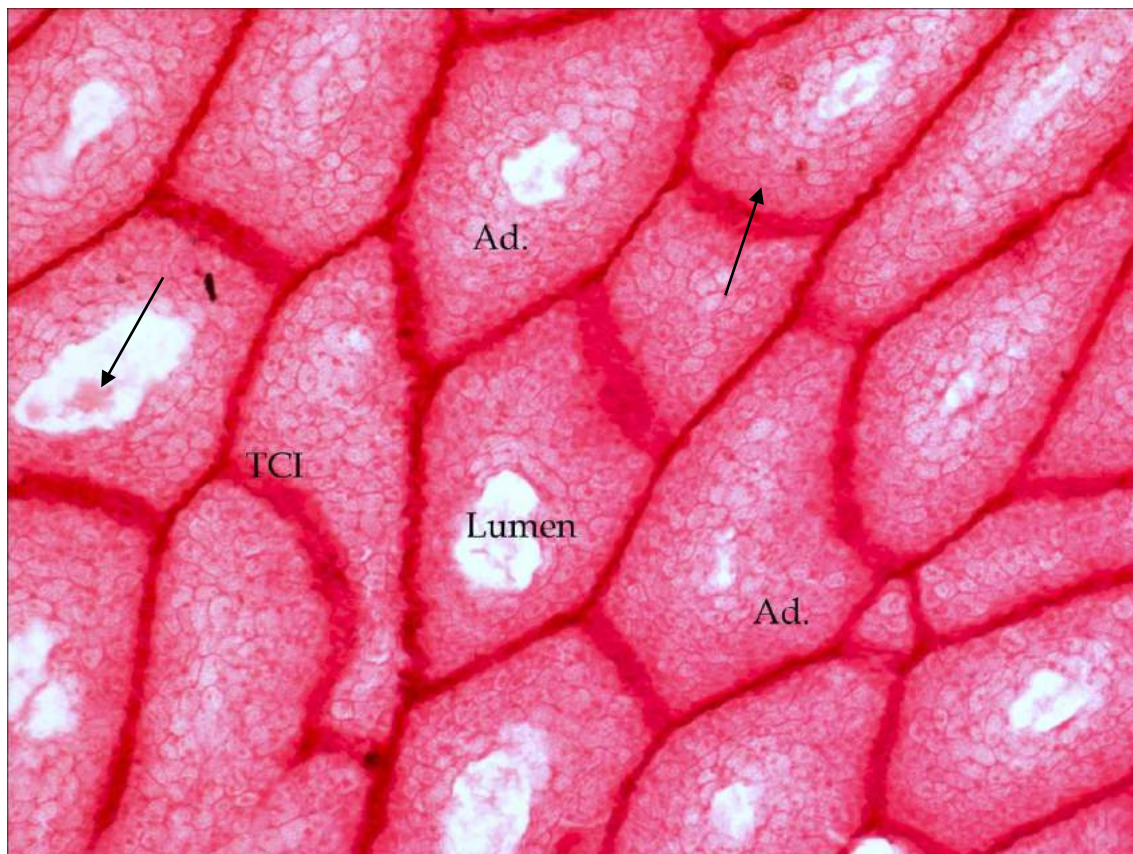


Figura 78: Glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Las flechas indican la positividad del estrato basal y de la secreción. PAS 10X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

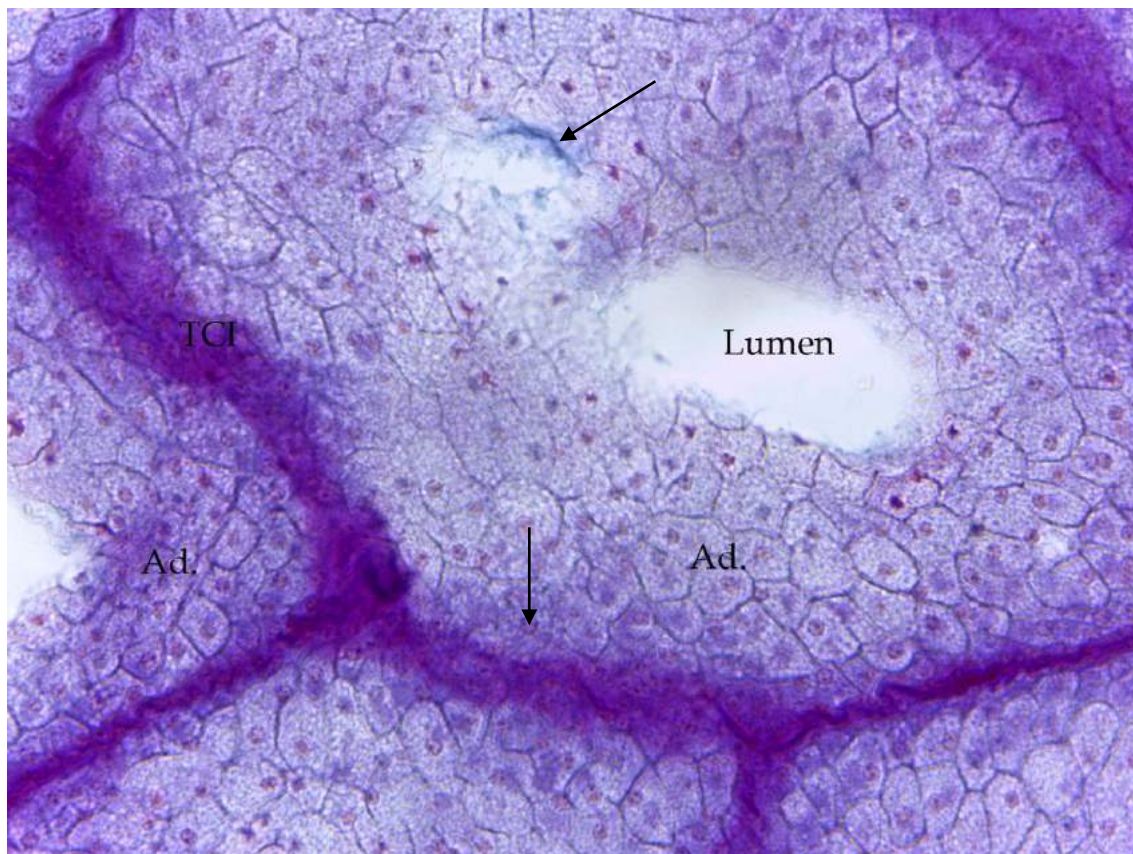


Figura 79: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Las flechas marcan la positividad frente a la técnica tanto en la secreción como en el estrato germinativo. AB-PAS 40X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

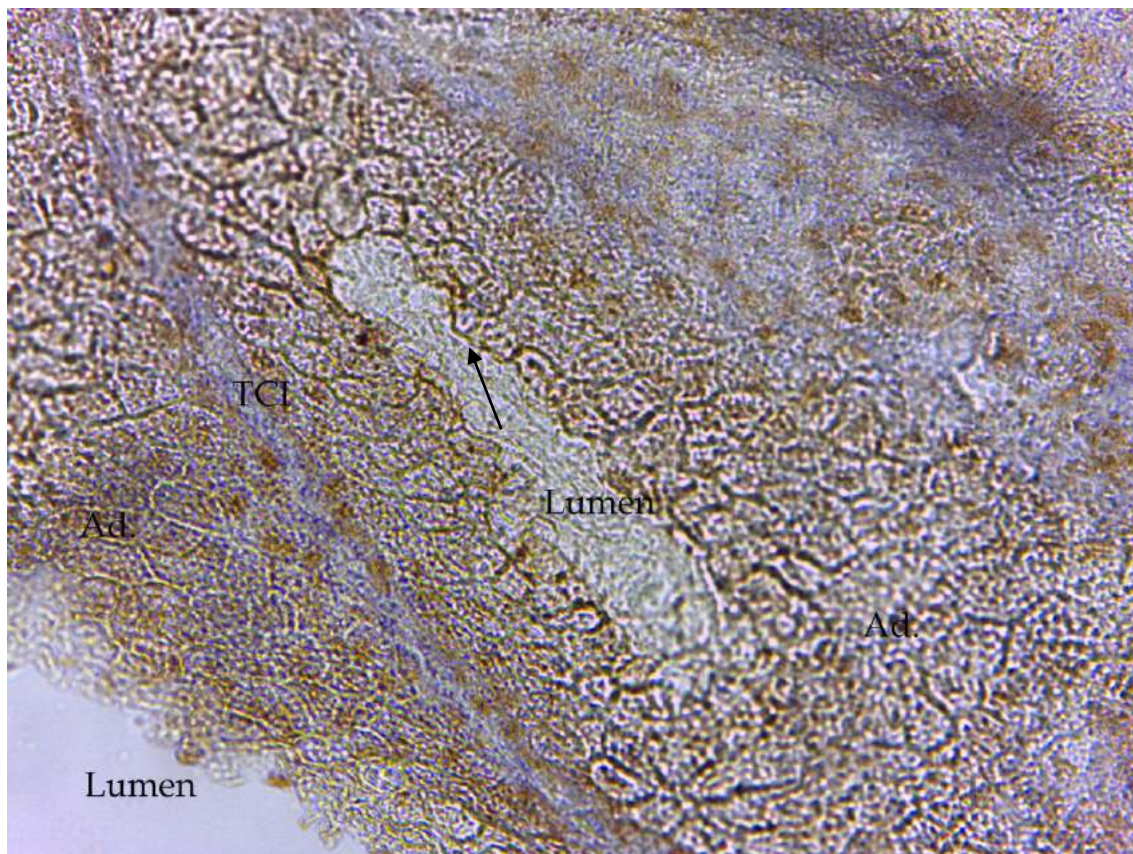


Figura 80: Adenómeros de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. Se observa positividad de las células de los adenómeros. La flecha indica el estrato degenerativo. CON-A 40X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

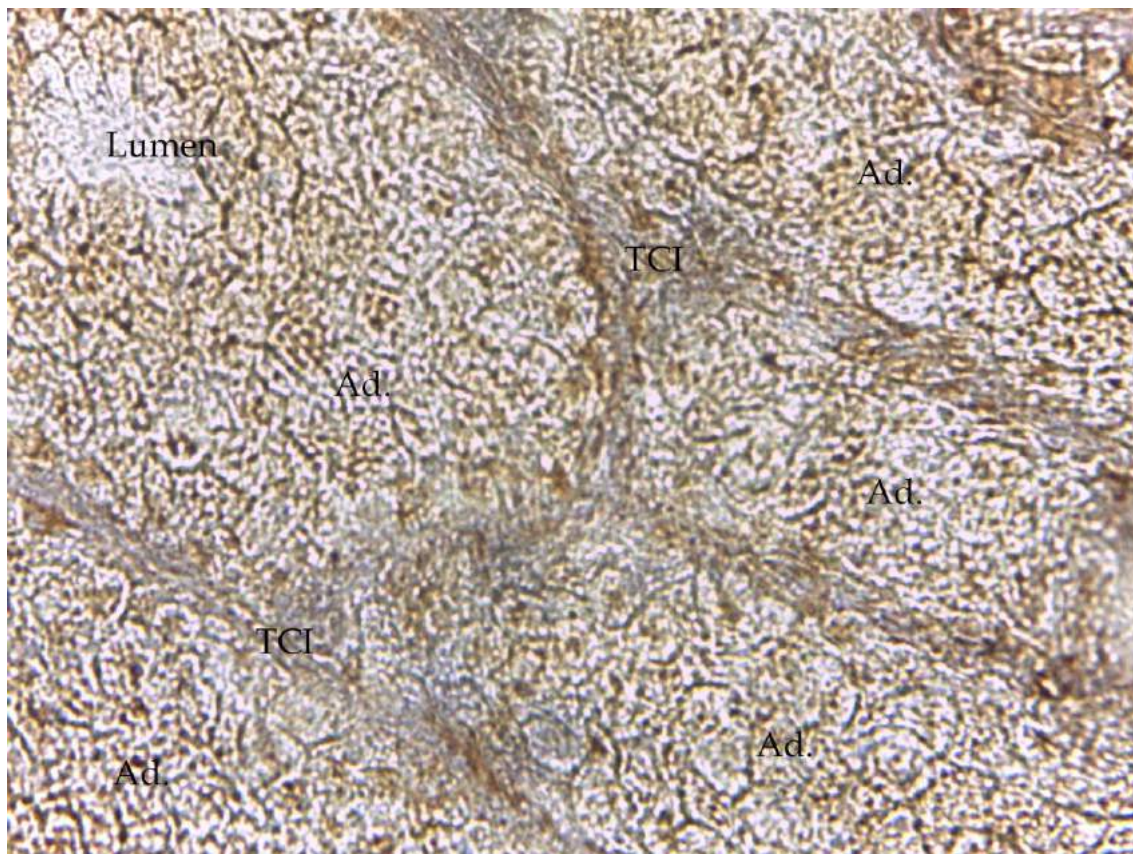


Figura 81: Glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. RCA-I 40X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

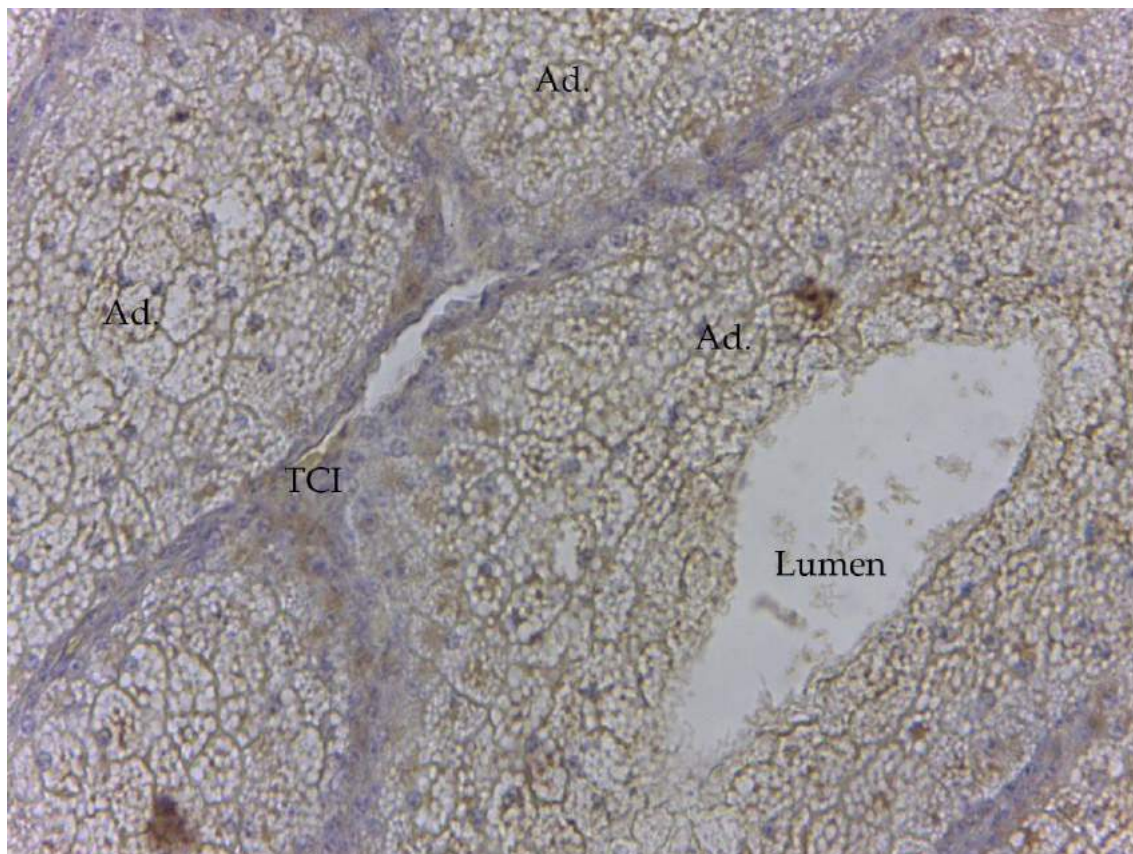


Figura 82: Adenómeros de la glándula uropigia de la lechucita de las vizcacheras. WGA 40X.
Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

CARANCHO *Caracara plancus*

La glándula uropigia de esta especie posee dos lóbulos bien diferenciados y una papila corta con un pincel de plumas en su extremo (Fig. 83).

La cápsula de tejido conectivo que rodea la glándula está muy desarrollada, es rica en fibras colágenas y desde ella parte el tabique interlobular y ramas que rodean a los adenómeros, ambos bastante desarrollados (Fig. 84-85). También son abundantes las fibras reticulares (Fig. 86) y elásticas formando parte del estroma de la glándula. Entre el TCD que rodea a los adenómeros pueden observarse acúmulos linfáticos.

Los adenómeros son tubulares, muy ramificados. La zona I posee 1 capa celular formando el estrato basal, 3-4 capas de células en el estrato intermedio, 4-5 capas secretoras y 1-2 capas celulares en el estrato degenerativo. En la zona II hay 1 capa perteneciente al estrato basal, de 1 a 2 capas en el estrato intermedio, 2-3 capas secretoras y 1 capa degenerativa. La zona III tiene un epitelio estratificado más bajo, caracterizado por 1 capa de células basales, 1 capa de células intermedias, 1-2 capas formando el estrato secretor y 1 capa de células degenerativas.

Se observa una cámara primaria de almacenamiento, revestida por un epitelio plano estratificado cornificado, sin células secretoras, desde la cual surgen los conductos excretores que se dirigen hacia la papila y que poseen un epitelio idéntico al de la cámara.

La papila consta de abundantes fibras colágenas y reticulares; también se observan algunas células adiposas, vasos sanguíneos y corpúsculos de Herbst (Fig. 87) cercanos a los folículos plumosos. Los poros excretores son dos: uno por lóbulo (Fig. 88), y los folículos se disponen alrededor de ambos. Existen fibras musculares lisas asociadas a estos folículos plumosos, pero las mismas están ausentes alrededor de los poros excretores.

Técnicas histoquímicas

En la membrana basal, el estrato germinativo y la secreción se observa PAS positividad (Fig. 93). Dentro de los azules alcían el de pH 2.5 genera la mayor reactividad, tanto en los distintos estratos como en la secreción (Fig. 89). Los azules alcían a pH 0.5 y 1 reaccionaron más débilmente.

Tabla 21: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia del carancho (*Caracara plancus*).

Técnica	Cél. Basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	++	+	+	+
AA 2.5	++	+	+	++
AA 1	+	-	+	+
AA 0.5	+	-	+	+
AA-PAS	++	+	++	++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcian. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

La secreción uropigial, algunos estratos celulares de los adenómeros y la periferia de las células reaccionan con diferente intensidad con varias de las lectinas utilizadas (Fig. 90) (Tabla 22).

Tabla 22: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia del carancho (*Caracara plancus*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	++	++	++	+
WGA	-	-	-	-
sWGA	++	++	++	++
SBA	+	+	+	+
RCA-I	+++	+++	+++	++
BSA-I	+	+	+	+
UEA I	+	+	+	+

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Técnicas inmunohistoquímicas

Se observó positividad frente a los anticuerpos antipancitoqueratina (CK) y antiPCNA, pudiéndose observar con ésta última técnica la presencia de células ciclantes en el estrato basal o germinativo formado por una sola capa celular en todas las zonas de los adenómeros.



Figura 83: Glándula uropigia del carancho (*Caracara plancus*).

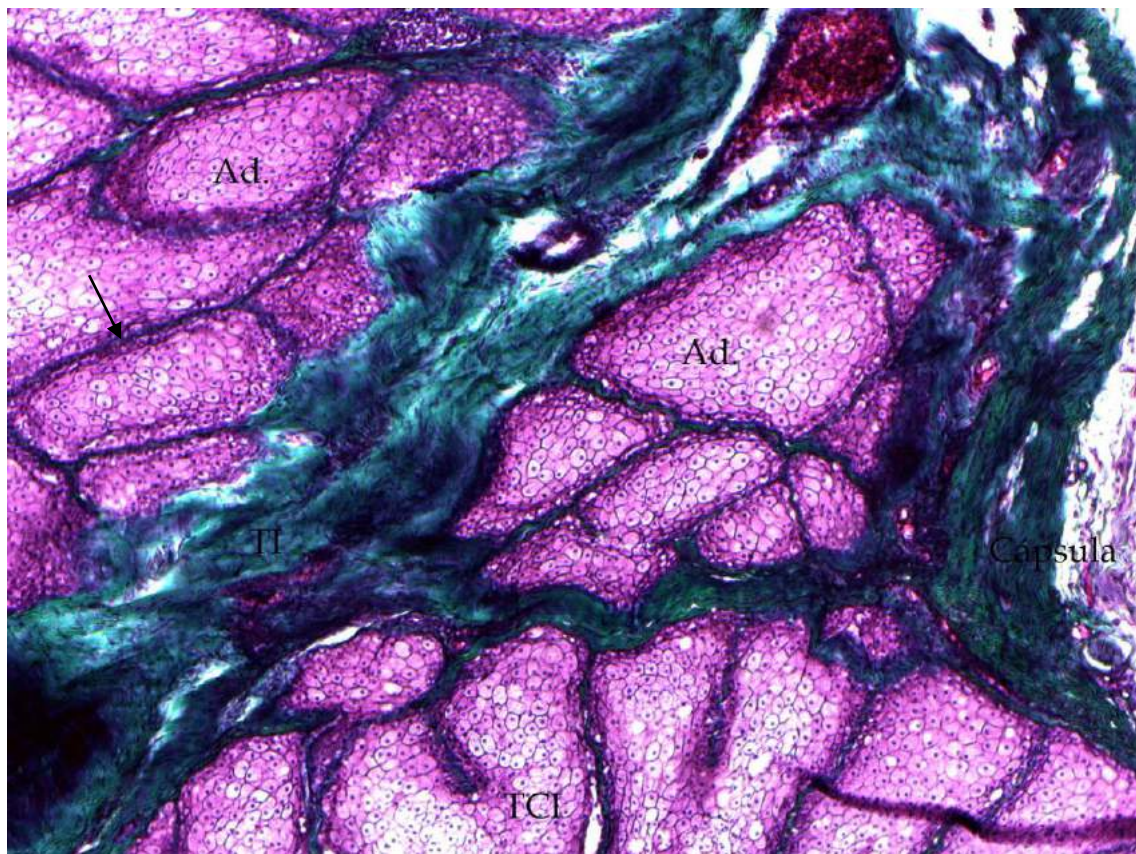


Figura 84: Corte longitudinal de la glándula uropigia del carancho. Se observa una cápsula muy desarrollada y el tabique interlobular que surge de la misma. La flecha marca el tejido conectivo interalveolar. Tricrómico de Gomori 4X. Ad: adenómeros, TI: tabique interlobular.

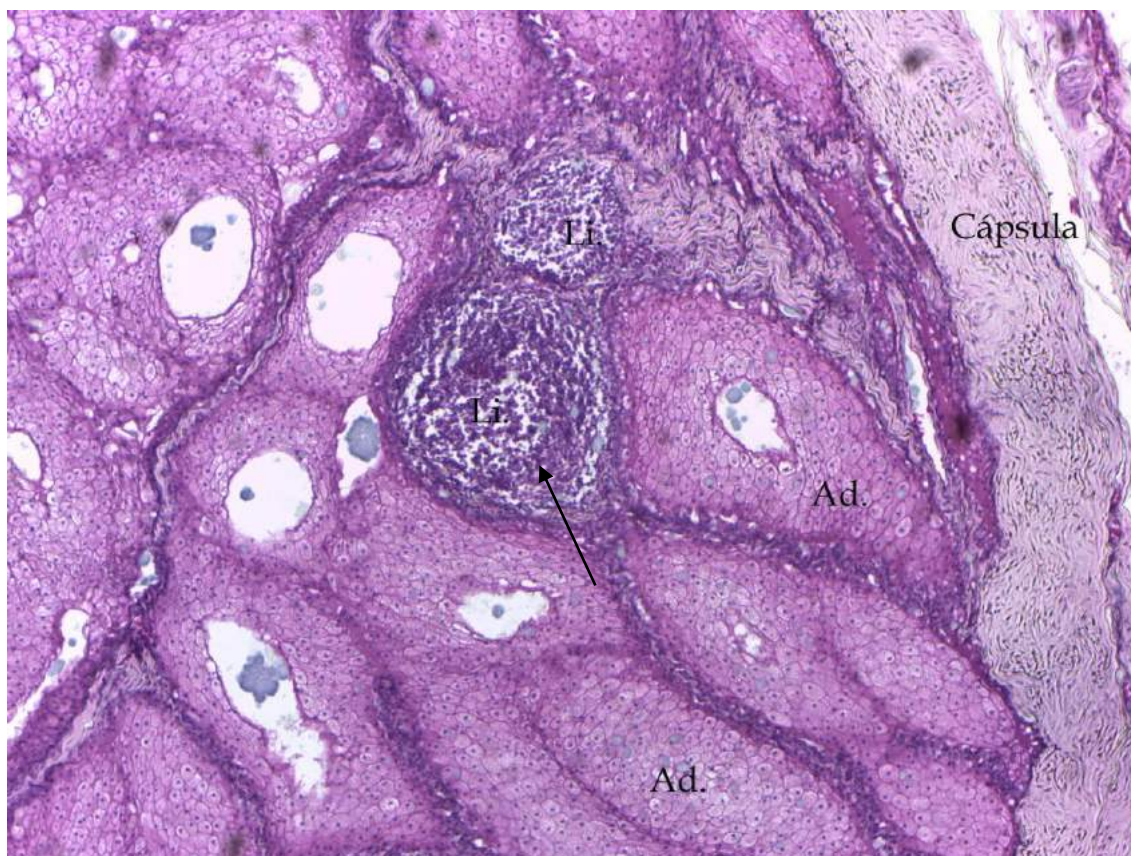


Figura 85: Corte longitudinal de la glándula uropigia del carancho. Se pueden observar acúmulos linfáticos en el tejido conectivo entre los adenómeros (flecha). Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómeros, Li: acúmulos linfáticos.

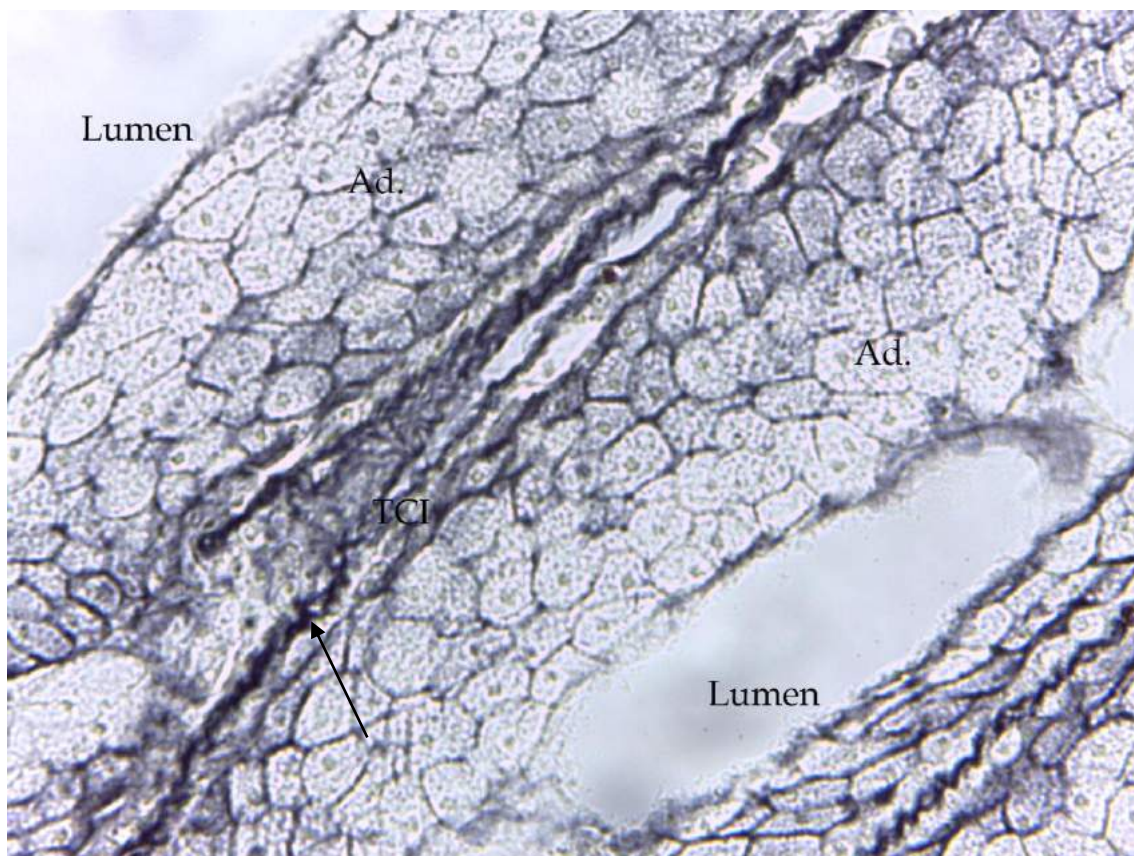


Figura 86: Adenómeros de la glándula uropigia del carancho. La flecha indica la presencia de fibras reticulares en el tejido conectivo interalveolar. Reticulina de Gomori 40X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

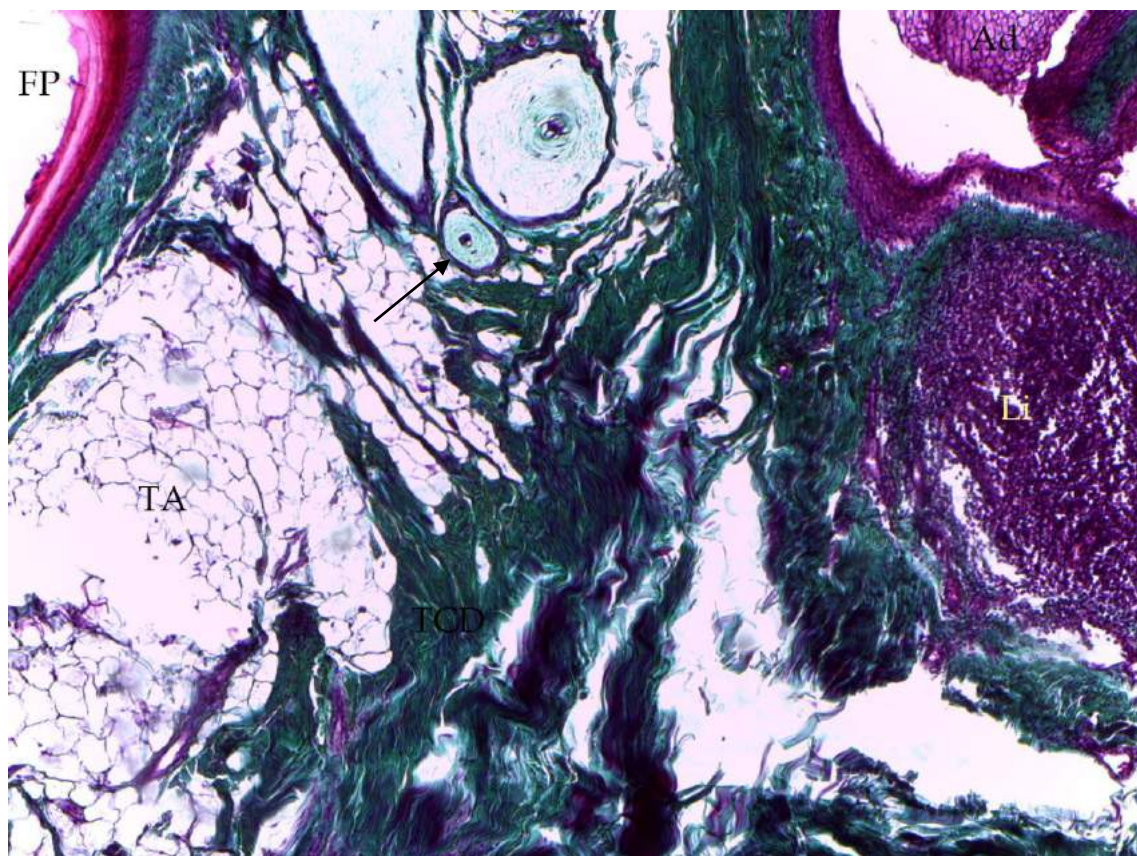


Figura 87: Detalle de la papila de la glándula uropigia del carancho. La flecha marca un pequeño corpúsculo de Herbst y por arriba de éste se puede observar uno de mayor tamaño. Tricrómico de Gomori 10X. FP: folículo plumoso, Li: acúmulo linfático, TA: tejido adiposo, TCD: tejido conectivo denso.



Figura 88: Corte transversal de la glándula uropigia del carancho. Hematoxilina-Eosina 4X. Co: conducto, FP: folículos plumosos, TCD: tejido conectivo denso.

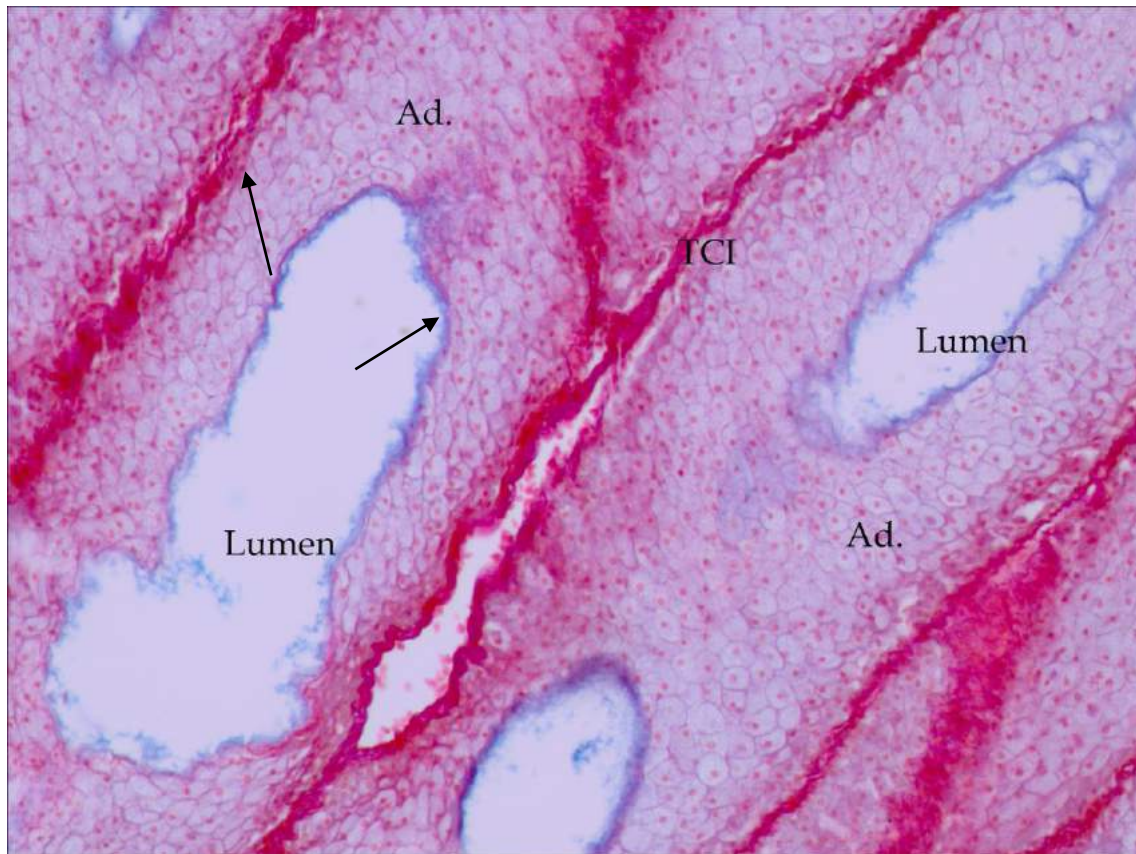


Figura 89: Corte longitudinal de los adenómeros de la glándula uropigia del carancho. Las flechas indican la positividad frente a la técnica, se observa PAS positividad en los estratos basal y degenerativo y positividad al azul alcian en la secreción y estrato degenerativo. AA-PAS 10X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

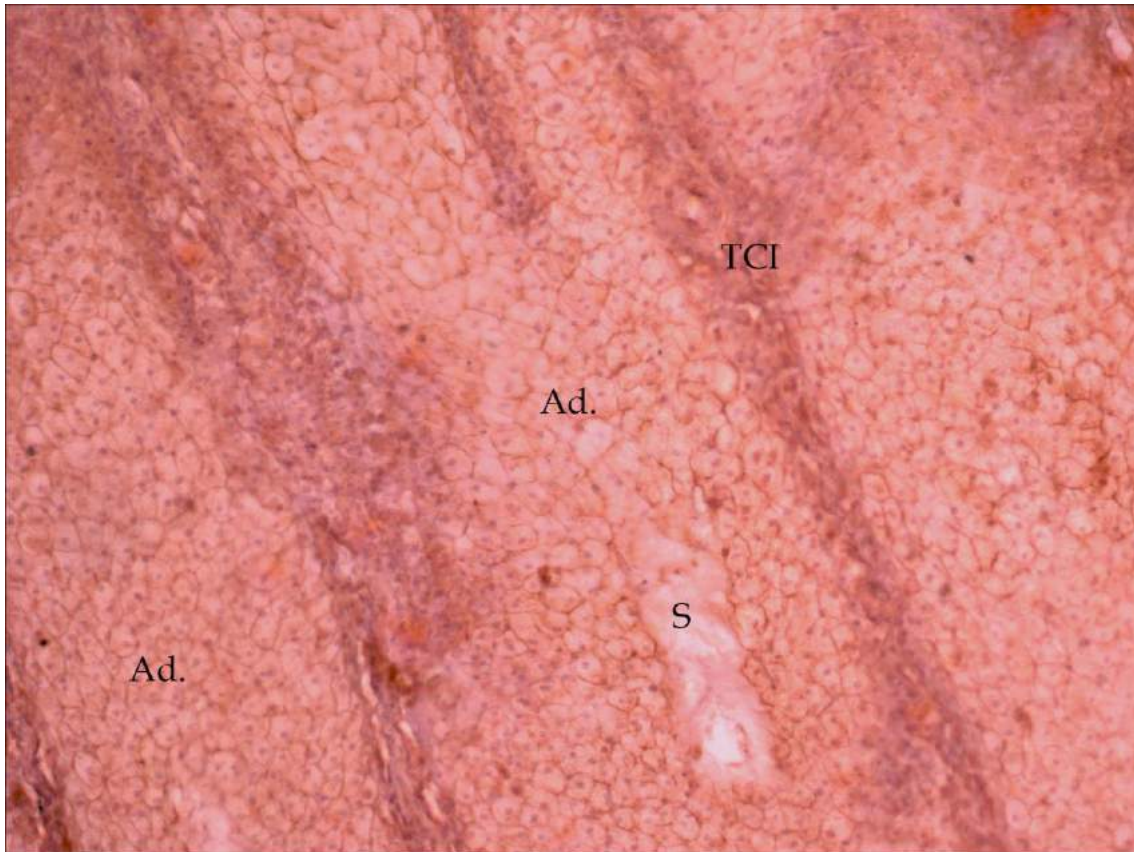


Figura 90: Adenómeros de la glándula uropigia del carancho. RCA-I 10X. Ad: adenómeros, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

CHIMANGO *Milvago chimango*

En esta especie de ave rapaz, la glándula uropigia tiene forma de corazón; está compuesta por dos lóbulos bien diferenciados y en su extremo posee una papila corta con un pincel de plumas que rodea a los poros excretores (Fig. 91).

Los lóbulos están formados por adenómeros tubulares, muy ramificados en la zona periférica de la glándula y menos ramificados hacia el interior de la misma. La glándula está rodeada por una cápsula de tejido conectivo denso (Fig. 92), formado por abundantes fibras colágenas y reticulares (Fig. 93) y algunas fibras musculares lisas y elásticas (Fig. 94). El tabique interlobular y el tejido conectivo que rodea a los adenómeros es delgado y en ellos resalta la presencia de fibras reticulares y elásticas; en cambio, no se advierten fibras musculares.

Las tres zonas de división de los adenómeros son identificables con nitidez. En la zona I, el estrato germinativo posee una sola capa celular, en tanto el estrato intermedio posee una o dos capas celulares, el estrato secretor está integrado por tres o cuatro capas celulares y el estrato degenerativo contiene sólo dos. La zona II también posee una sola capa de células basales, su estrato intermedio contiene una o dos capas celulares, en tanto el estrato secretor muestra dos o tres capas celulares y existe una sola capa celular degenerativa. Por último, la zona III posee un epitelio aún más bajo, con una capa celular germinativa, una capa celular intermedia, una o dos capas de estrato secretorio y otras tantas degenerativas. Desde esta zona, comienzan a formarse los conductos colectores o cámaras secundarias (Fig. 95) que desembocan en una amplia cámara primaria de almacenamiento (Fig. 96), desde donde se originan los conductos o poros excretores.

La papila en esta glándula es de tipo delicado, tiene abundante tejido conectivo denso en el que predominan las fibras colágenas y reticulares, aunque también existen algunas fibras musculares lisas (aparentemente asociadas a los folículos plumosos) y acúmulos linfoides. Se observan dos poros excretores, uno por lóbulo, rodeados por folículos plumosos. También se observan folículos plumosos en el septo medial que separa a los poros (Fig. 97).

Técnicas histoquímicas

La membrana basal, el estrato germinativo y la secreción muestran PAS positividad. Esta reacción positiva persiste aun luego del tratamiento con Diastasa, lo cual indica

que la reacción no está ligada, al menos exclusivamente, a la presencia de glucógeno sino a glicoproteínas con dioles vecinos oxidables.

La positividad de las técnicas de azul alcían a distintos pHs indica la existencia de diferentes glicoconjugados en las células de los distintos estratos (Tabla 23) (Figs. 98-100).

Tabla 23: Reacción histoquímica para carbohidratos y lípidos en los adenómeros de la glándula uropigia de *Milvago chimango*.

Técnica	Cél. basales	Cél. Intermedias y secretoras	Estrato degenerativo	Secreción
PAS	+	-	+	+
AA 2.5	++	+	++	+++
AA 1	+	+	++	++
AA 0.5	-/+	-/+	+	+
AA-PAS	++	++	++	+++
Sudan				+++

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcían. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

La Tabla 24 resume el patrón de unión a las diferentes lectinas analizadas. Tanto las células de los diferentes estratos como la secreción presentan reacción positiva para varias lectinas (Figs. 101-102) y otro tanto ocurre en la periferia celular. En la cámara primaria, si bien se advierte que la secreción es positiva frente a algunas lectinas, las células del epitelio de esta cámara dan reacción negativa excepto en la periferia.

Tabla 24: Lectinohistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia del chimango (*Milvago chimango*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	++	++	++	+++
WGA	-	-	-	-
sWGA	++	++	++	++
SBA	+	+	+	++
PNA	+	+	+	++
RCA-I	+++	+++	+++	+++
BSA-I	+	+	+	++
UEA I	+	+	+	++

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Técnicas inmunohistoquímicas

El anticuerpo antidesmina confirmó la presencia de fibras musculares en la cápsula, mientras que el anticuerpo antipancitoqueratina fue positivo en las células epiteliales.

Por otra parte, la IHQ con el anticuerpo anti PCNA mostró resultados positivos en los estratos basales de las distintas zonas (Fig. 103), confirmando la presencia de una sola capa germinativa en los adenómeros de las zonas I y II y de hasta dos capas de células proliferativas en la zona III.

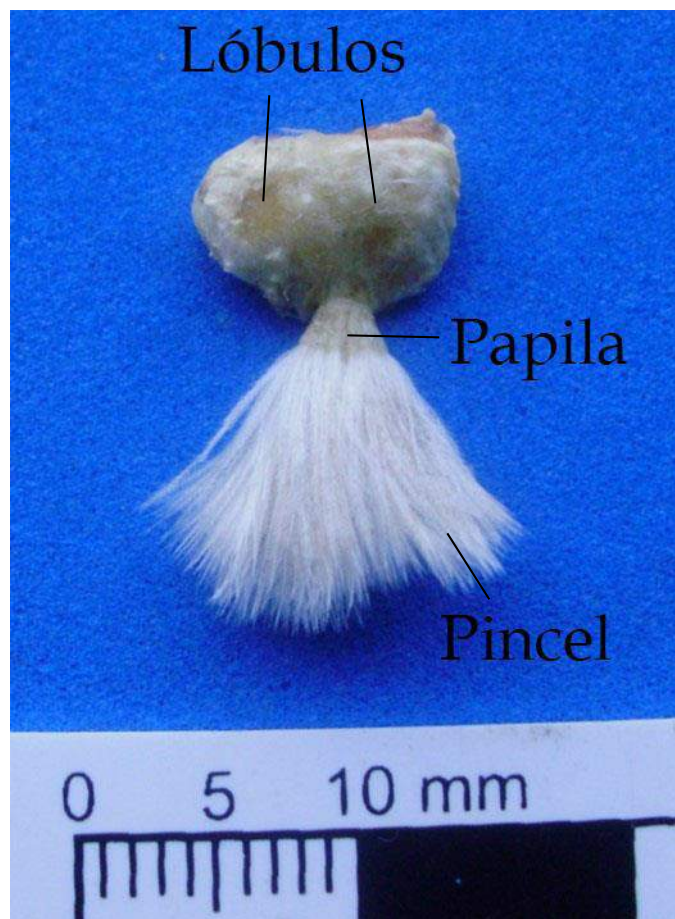


Figura 91: Glándula uropigia del chimango (*Milvago chimango*).

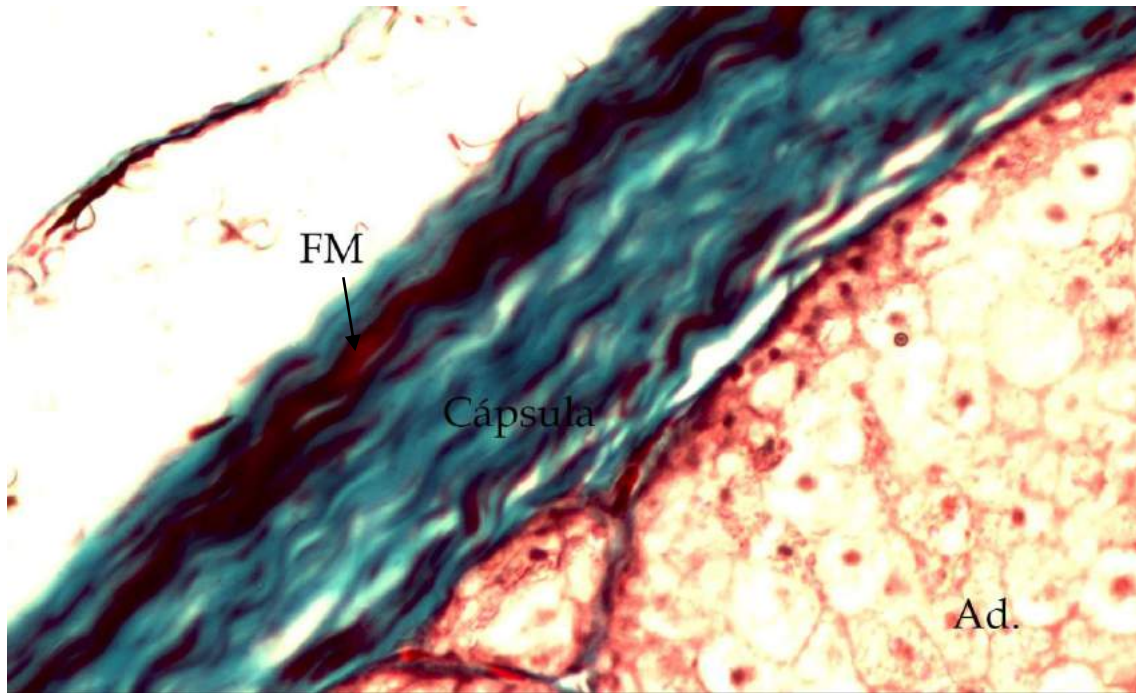


Figura 92: Detalle de la cápsula de la glándula uropigia del chimango. Se observan las fibras musculares lisas. Tricrómico de Gomori 20X. Ad: adenómero, FM: fibras musculares lisas.

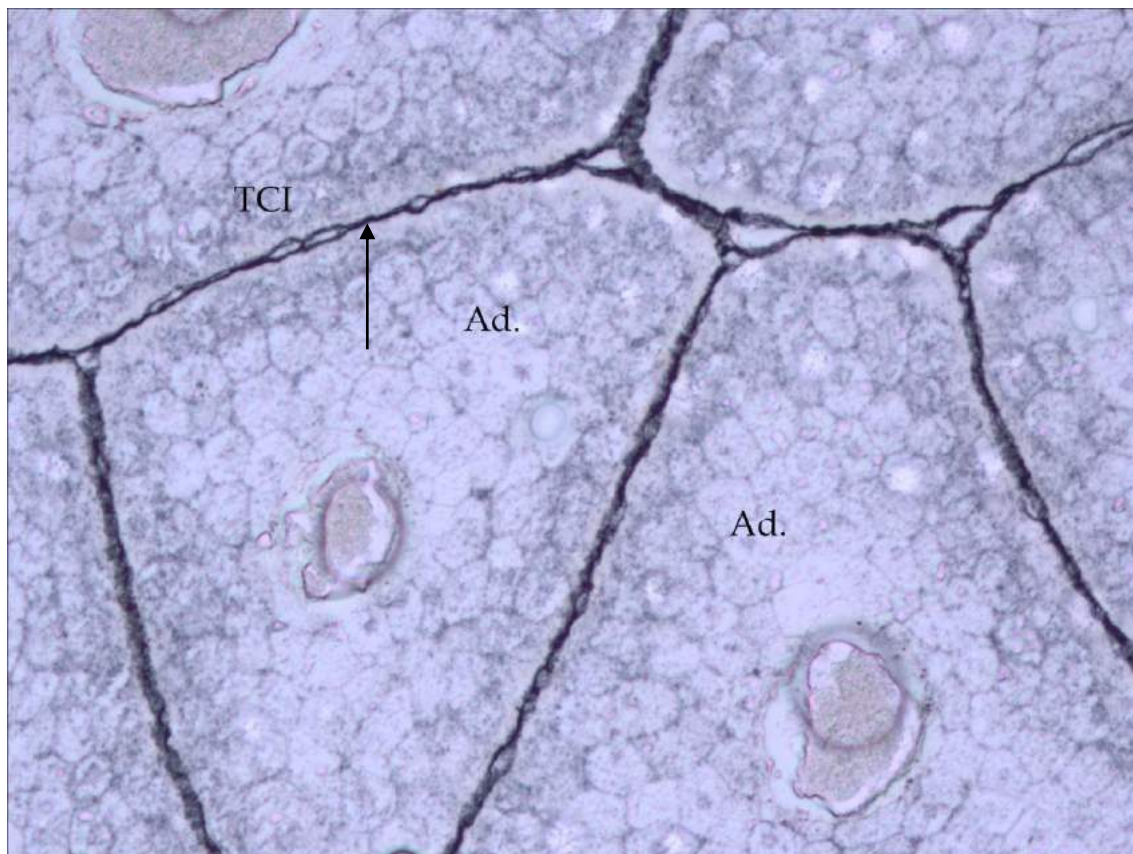


Figura 93: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia del chimango. La flecha señala la presencia de fibras reticulares en el TCI. Reticulina de Gomori 20X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

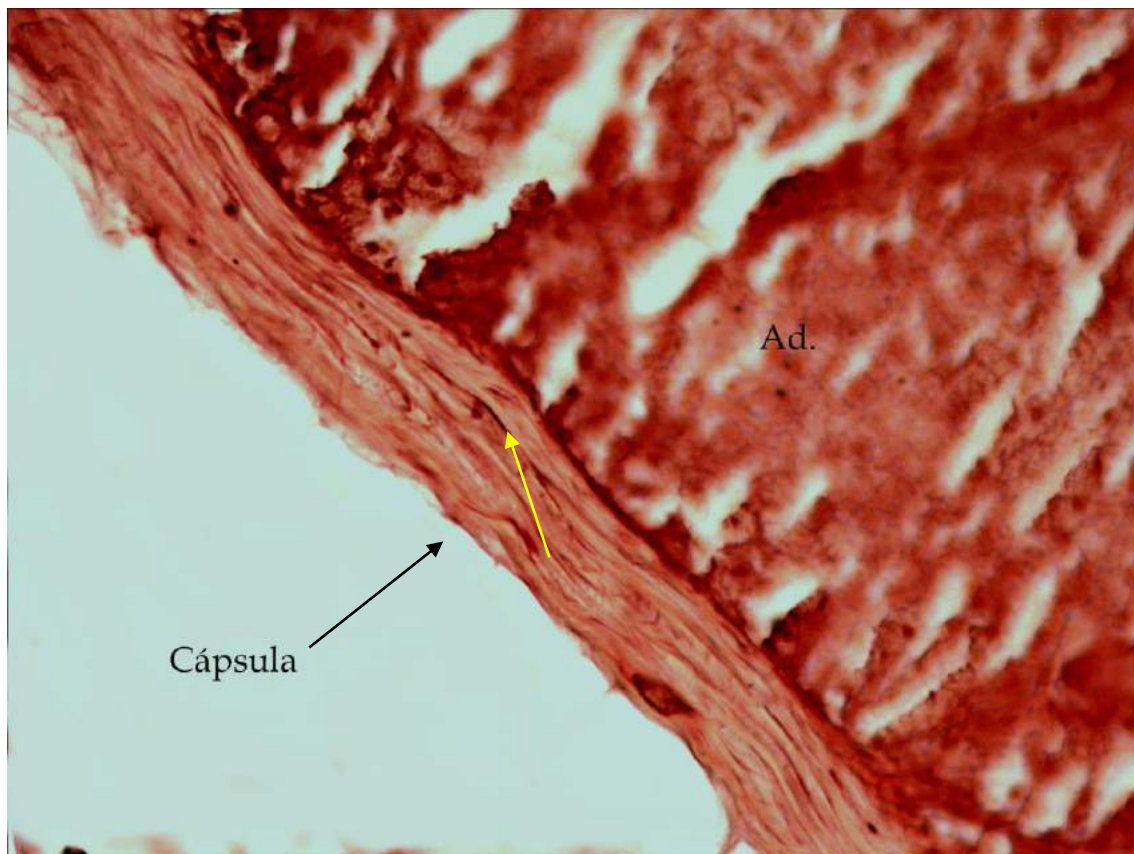


Figura 94: Detalle de la cápsula de la glándula uropigia del chimango. La flecha amarilla señala fibras elásticas. Orceína 20X. Ad: adenómeros.

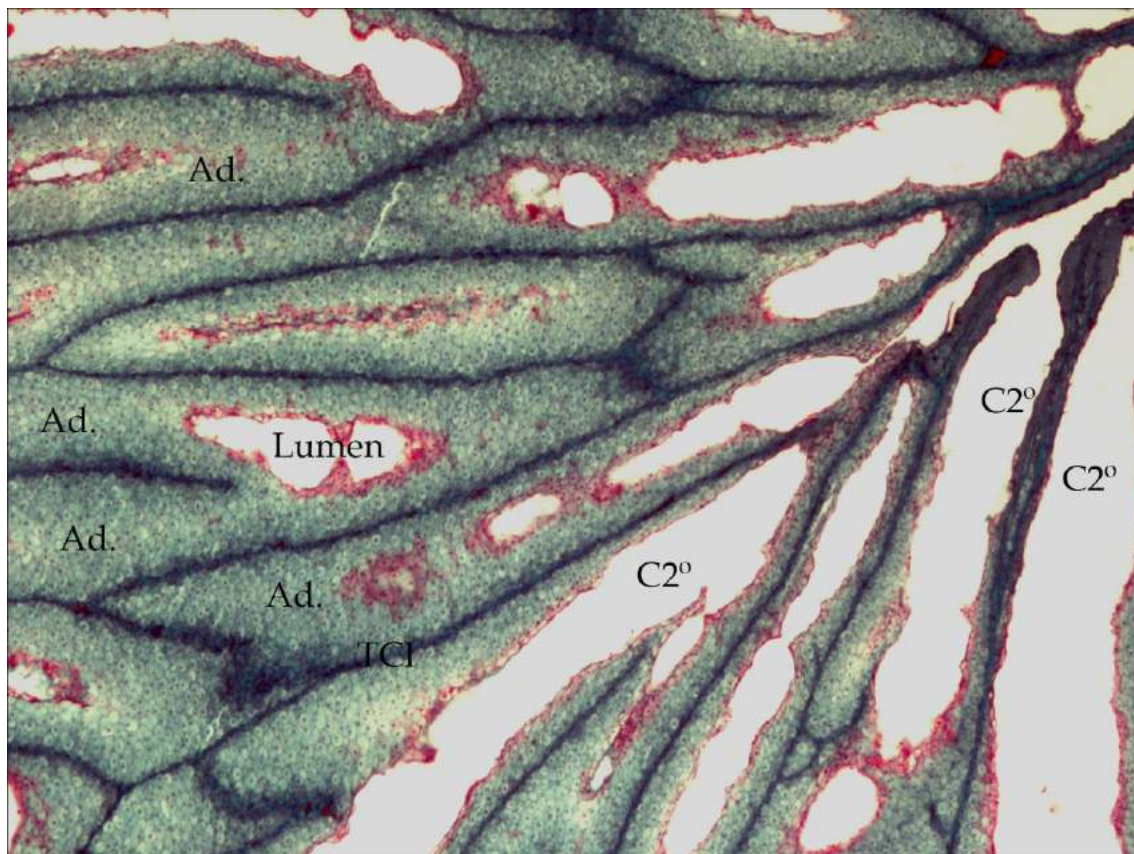


Figura 95: Corte longitudinal de la glándula uropigia del chimango. Se pueden observar las cámaras secundarias. Tricrómico de Gomori 4X. Ad: adenómeros, C2º: cámaras secundarias, TCI: tejido conectivo interalveolar.

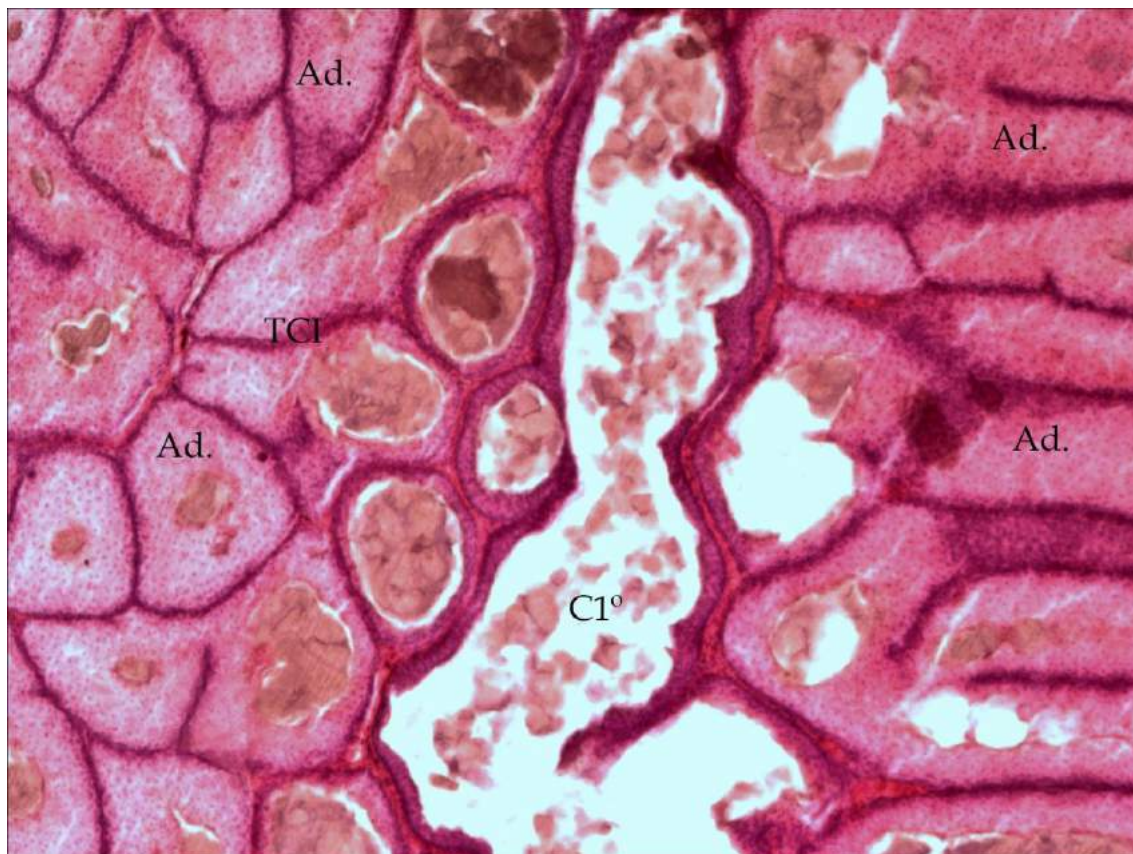


Figura 96: Corte transversal de la glándula uropigia del chimango a nivel de la cámara primaria de almacenamiento. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómeros, C1°: cámara primaria, TCI: tejido conectivo interalveolar.

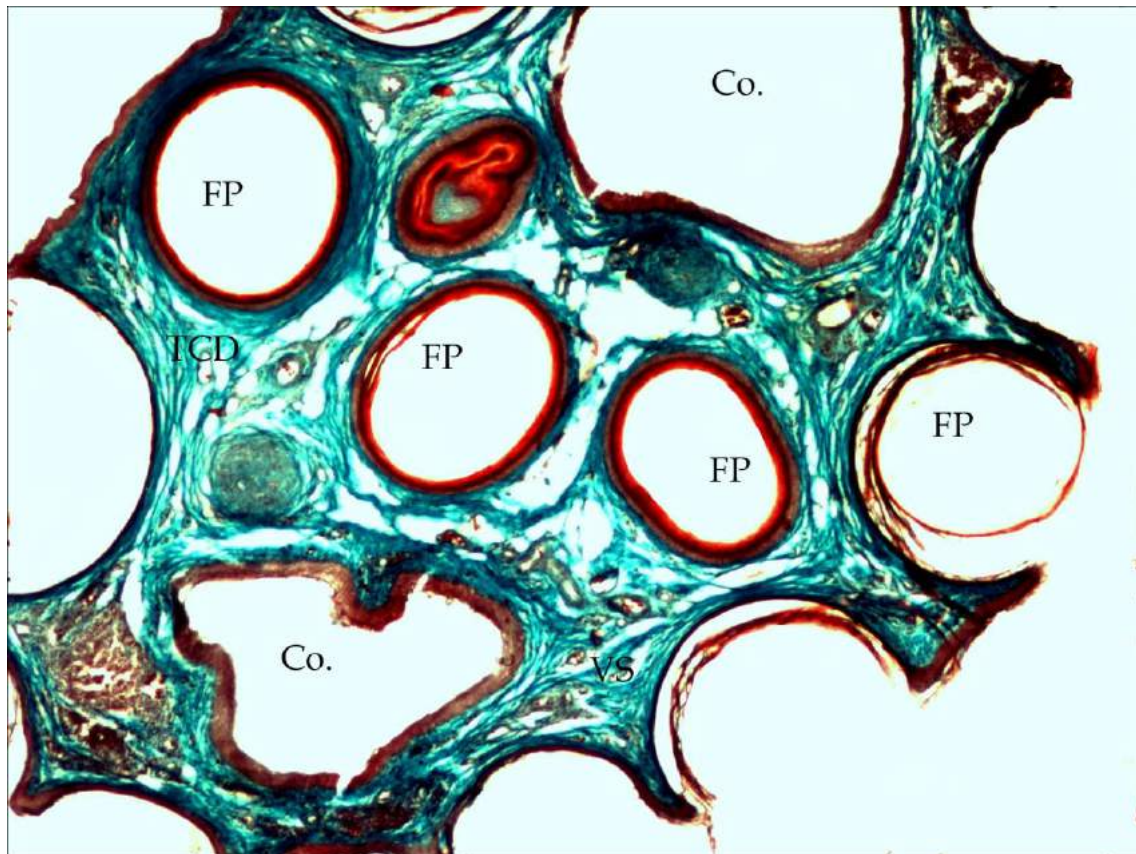


Figura 97: Corte transversal a nivel de la papila de la glándula uropigia del chimango. Tricrómico de Gomori 4X. Co: conductos excretores, FP: folículos plumosos, TCD: tejido conectivo denso.

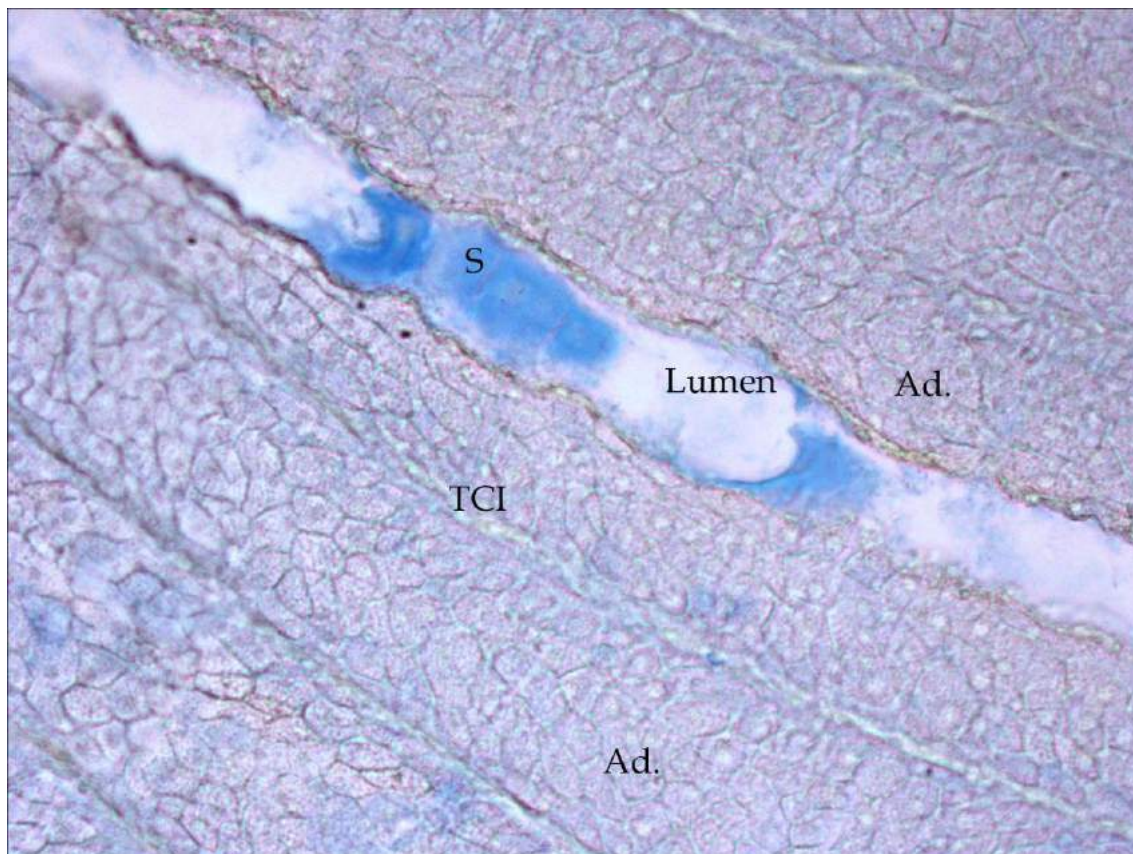


Figura 98: Corte longitudinal de los adenómeros de la glándula uropigia del chimango. AA pH 0.5 20X. Ad: adenómeros, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

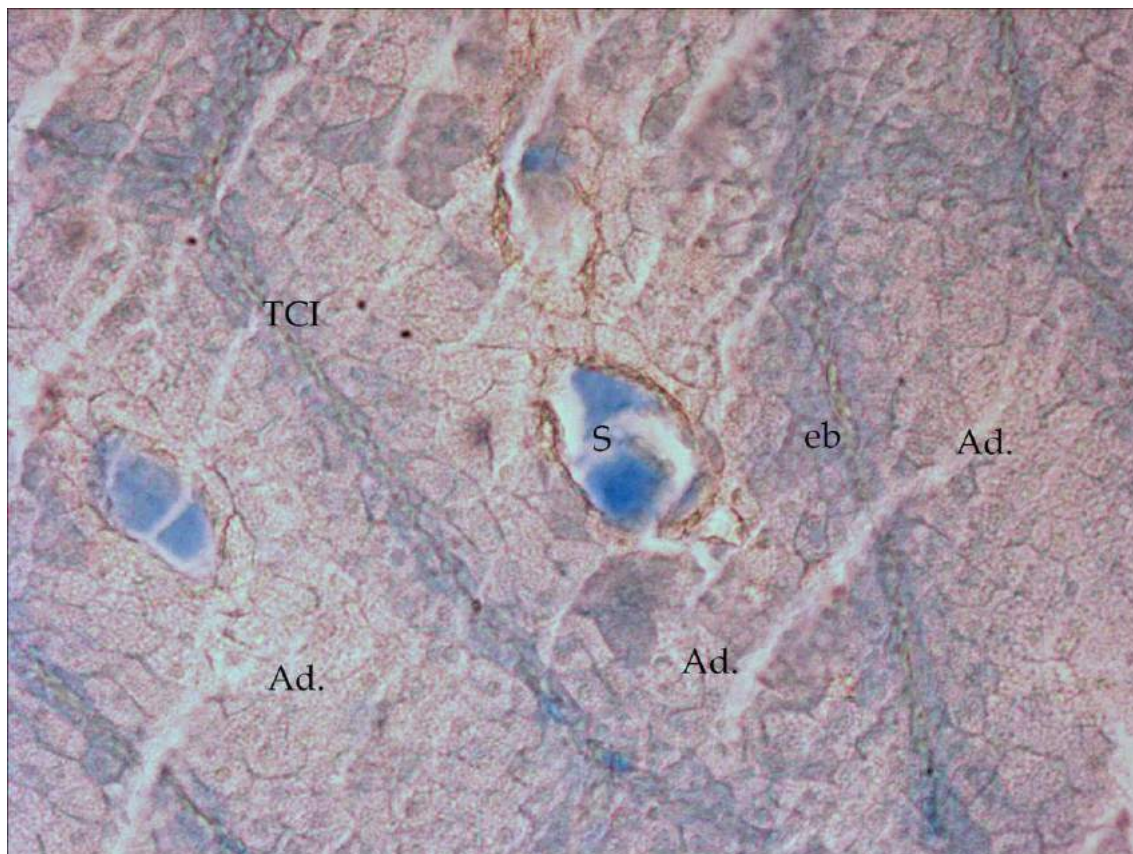


Figura 99: Corte transversal de la glándula uropigia del chimango. AA pH 1 20X. Ad: adenómeros, eb: estrato basal, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

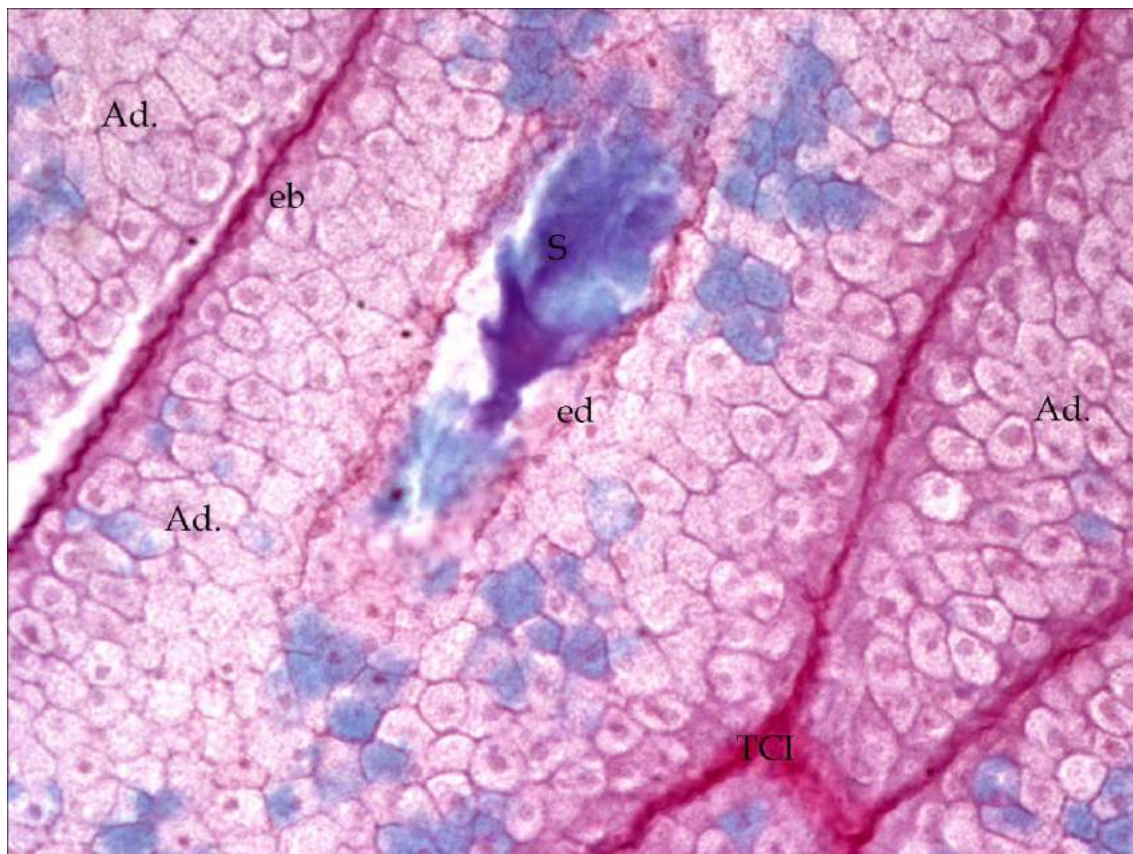


Figura 100: Adenómeros de la glándula uropigia del chimango. AA-PAS 20X. Ad: adenómeros, eb: estrato basal, ed: estrato degenerativo, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

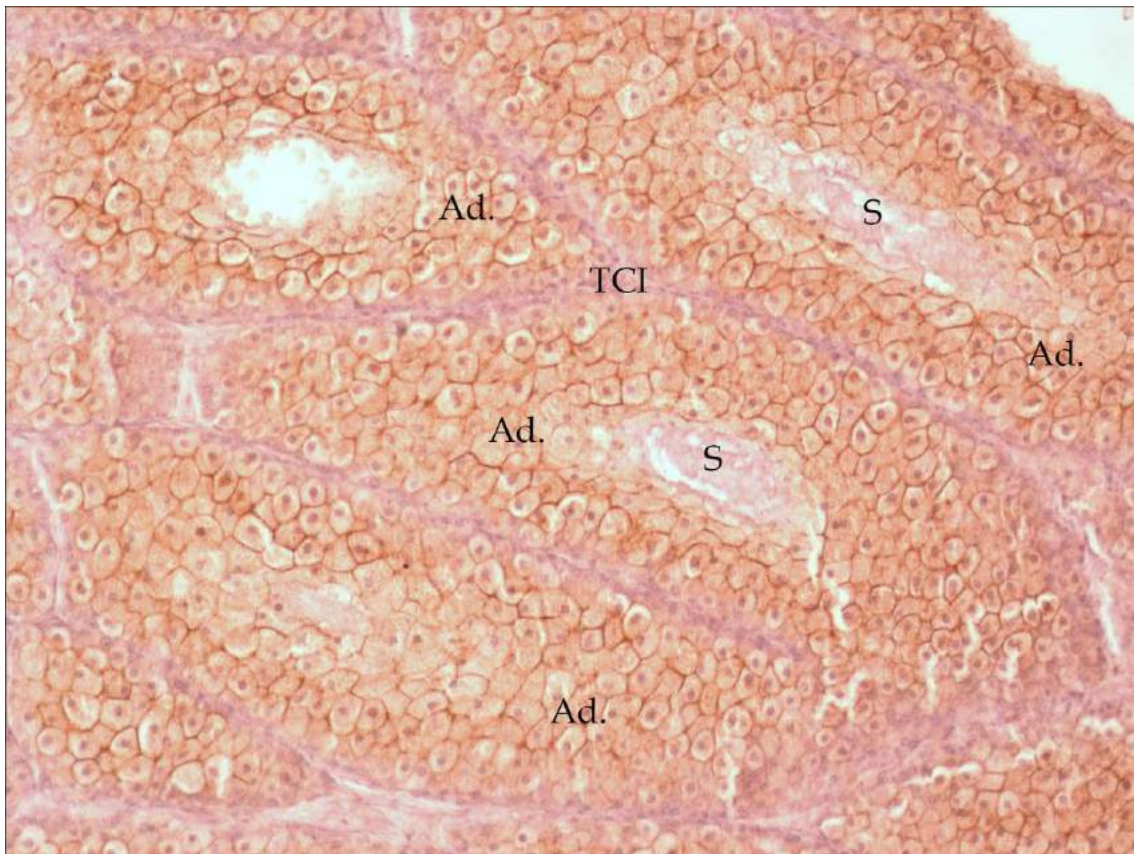


Figura 101: Corte longitudinal de la glándula uropigia del chimango. SBA 10X. Ad: adenómeros, S: secreción, TCI: tejido conectivo interalveolar.

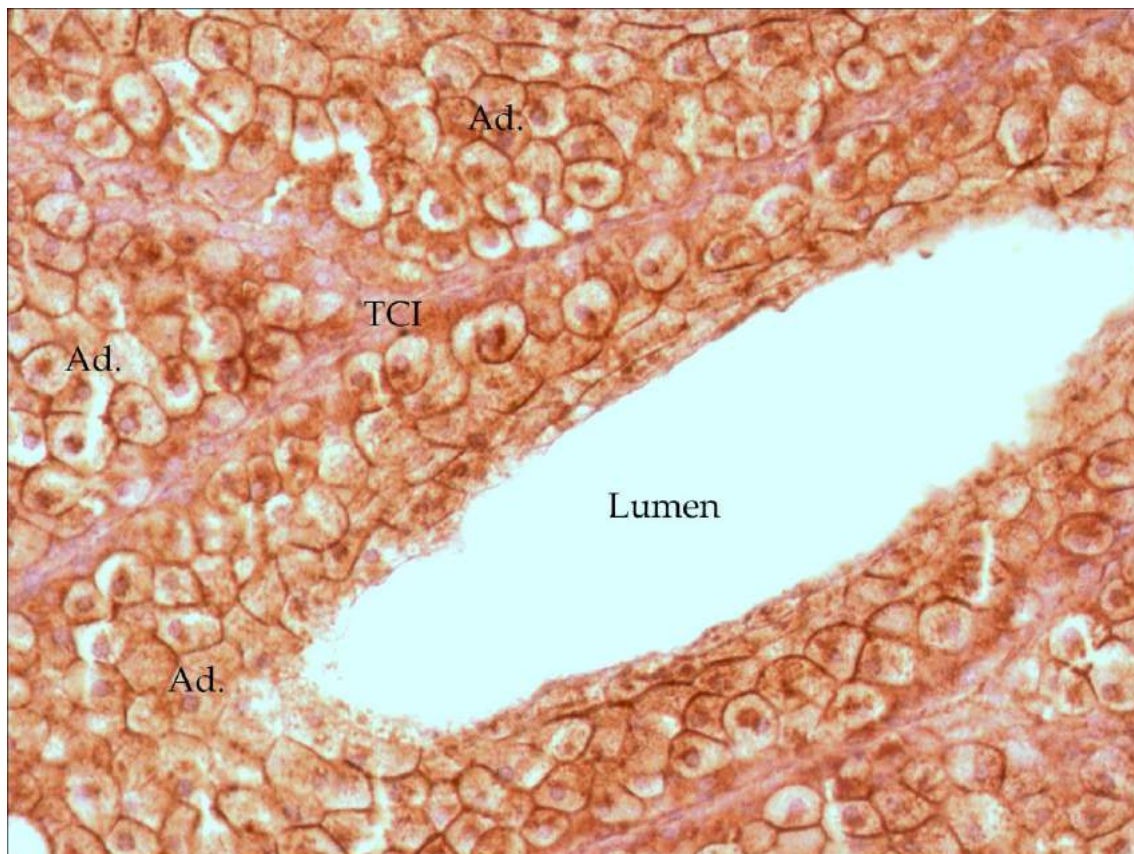


Figura 102: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia del chimango. RCA-I 20X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

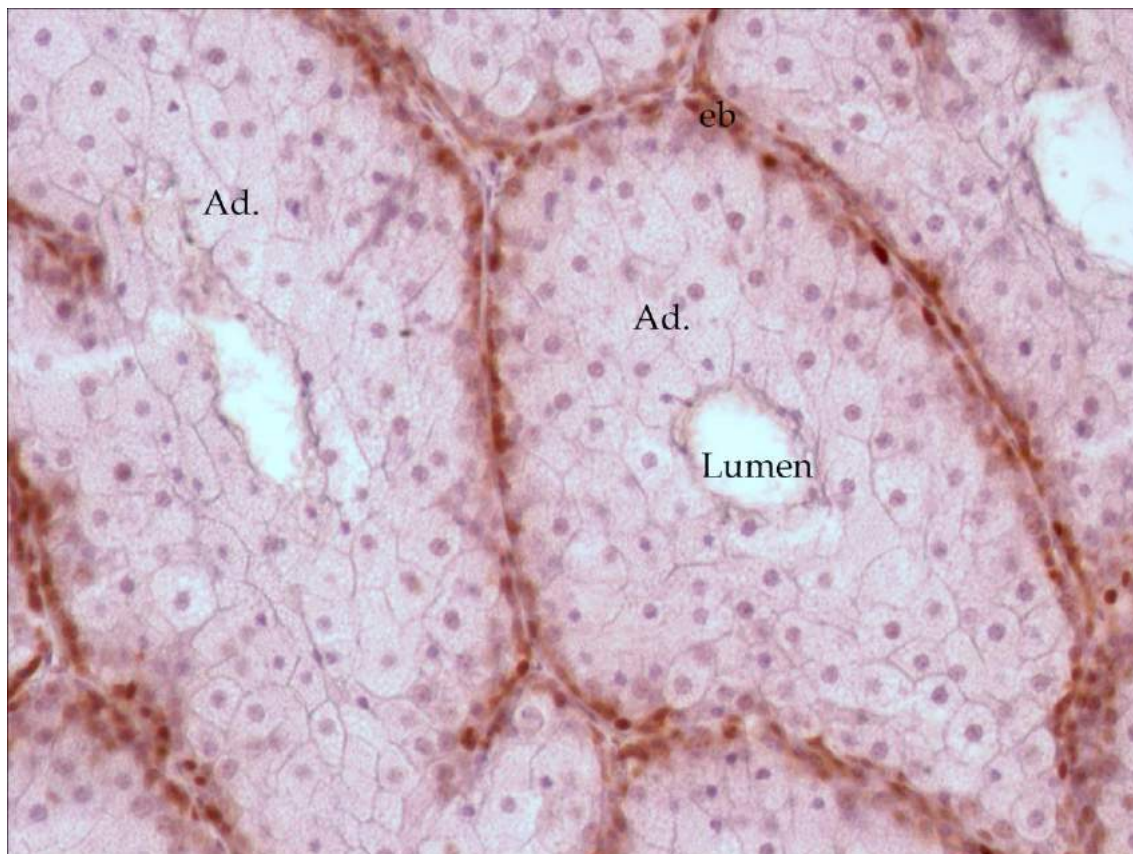


Figura 103: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia del chimango. PCNA 20X. Ad: adenómeros, eb: estrato basal.

COTORRA COMÚN *Myiopsitta monachus*

La glándula uropigia de la cotorra común está formada por dos lóbulos bien diferenciados y una papila cilíndrica y larga con un pincel de plumas (Fig. 104).

Externamente, la glándula está rodeada por una delgada capa de tejido conectivo denso y a partir de ésta surge un tabique interlobular (Fig. 105). Tanto del tabique como de la cápsula nacen ramas de tejido conectivo que rodean a las unidades secretoras (Fig. 106). En la cápsula y en el tabique interlobular se detectan fibras elásticas y musculares lisas, en tanto el tejido interalveolar tiene abundancia de fibras reticulares y algunas fibras elásticas.

Los adenómeros, tubulares, están muy ramificados y su recorrido es tortuoso. Las células de la capa secretora de estas unidades son grandes y poseen un aspecto particular, con una única vacuola lipídica que las asemeja a las células adiposas. Las células que corresponden a la capa intermedia poseen varias vacuolas en su citoplasma y son más pequeñas que las secretoras.

En la zona I la luz tubular es muy pequeña y se distinguen una capa de células germinativas, dos o tres capas celulares en el estrato intermedio, cuatro capas celulares en el estrato secretor y una en el degenerativo. La zona II posee un lumen más amplio, con una capa celular formando el estrato basal, una o dos capas celulares correspondientes al estrato intermedio, tres capas de células secretoras y una degenerativa. En la zona III la luz tubular es muy amplia y la altura del epitelio menor (una sola capa celular en los estratos basal, intermedio y degenerativo y dos en el estrato secretor).

Desde la zona III, los adenómeros convergen en cavidades secundarias o conductos colectores que terminan desembocando en una única cámara primaria de almacenamiento por lóbulo. A partir de ésta, surgen los conductos excretores que se dirigen hacia la papila.

La papila es de tipo delicado, rica en fibras colágenas y con algunas células adiposas, vasos sanguíneos y escasas fibras musculares aisladas. Hay dos poros excretores, uno por lóbulo, rodeados por folículos plumosos (Fig. 107); el epitelio de los poros conserva algunas células con aspecto de adipocitos (Fig. 108).

Técnicas histoquímicas

De las técnicas realizadas, sólo el AA pH 2.5 y el PAS fueron positivos; se marcaron las células del estrato basal, el estrato degenerativo y la secreción uropigial. El resto de las técnicas arrojaron resultados negativos (Tabla 25).

Tabla 25: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia de la cotorra común (*Myiopsitta monachus*).

Técnica	Cél. Germinativas	Adenómero	Capa degenerativa	Secreción
PAS	+	-	-	+
AA 2.5	+	-	+	+
AA 1	-	-	-	-
AA 0.5	-	-	-	-
AA-PAS	+	-	+	+

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcian. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

La glándula uropigia de la cotorra mostró positividad frente algunas lectinas utilizadas en todas las zonas en las que se dividen los adenómeros y en la secreción (Figs. 109-110) (Tabla 26).

Tabla 26: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia de la cotorra común (*Myiopsitta monachus*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	+	+	+	+
WGA	+++	+++	+++	+++
sWGA	-	-	-	-
LEA	-	-	-	-
SBA	-	-	-	-
PNA	+/-	+/-	+/-	+/-
RCA-I	+++	+++	+++	+++
BSA-I	-	-	-	-
UEA I	++	++	++	++

(-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Técnicas inmunohistoquímicas

El epitelio de los adenómeros mostró positividad frente al antígeno pancitoqueratina.

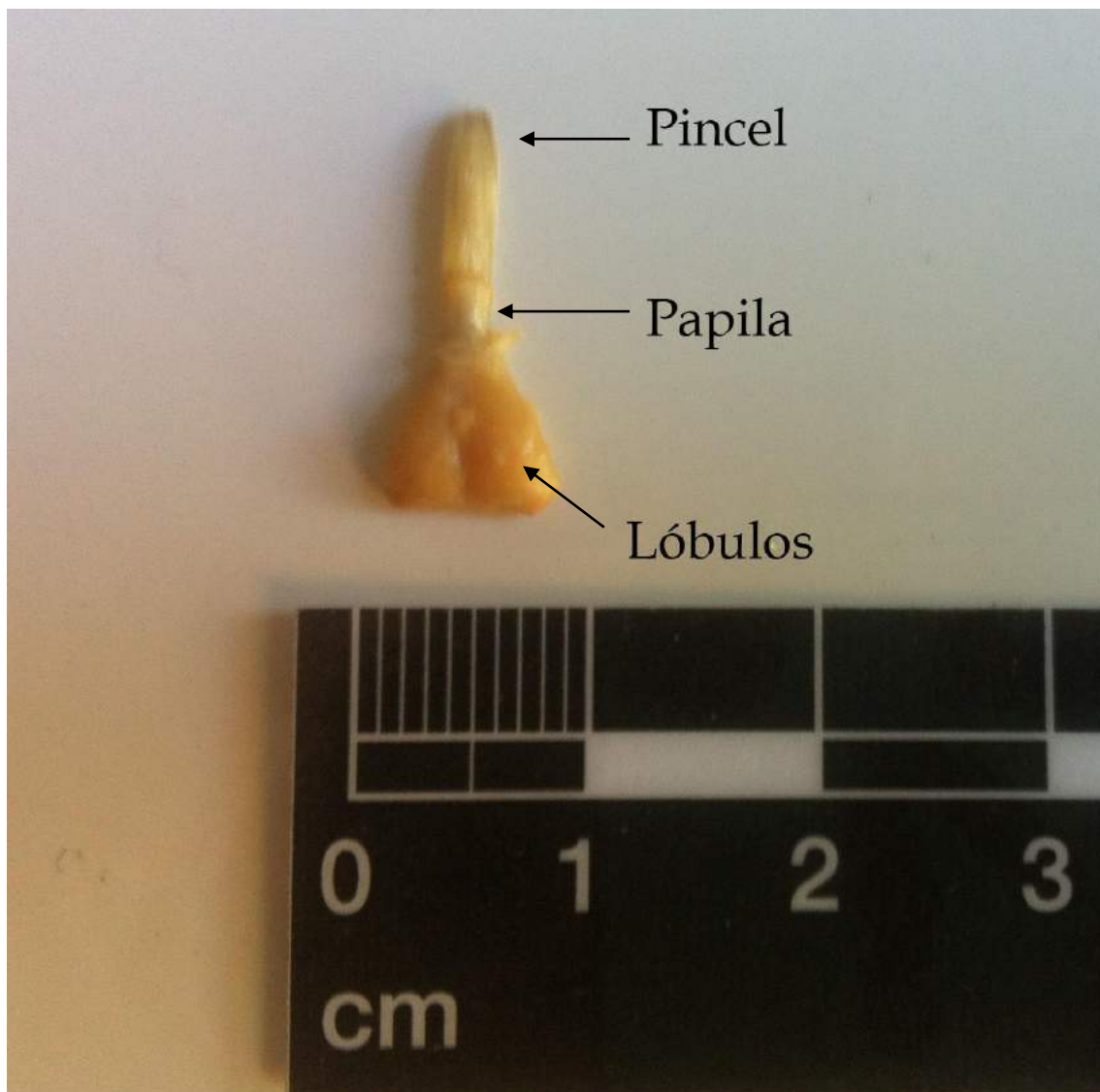


Figura 104: Glándula uropigia de la cotorra común (*Myiopsitta monachus*).

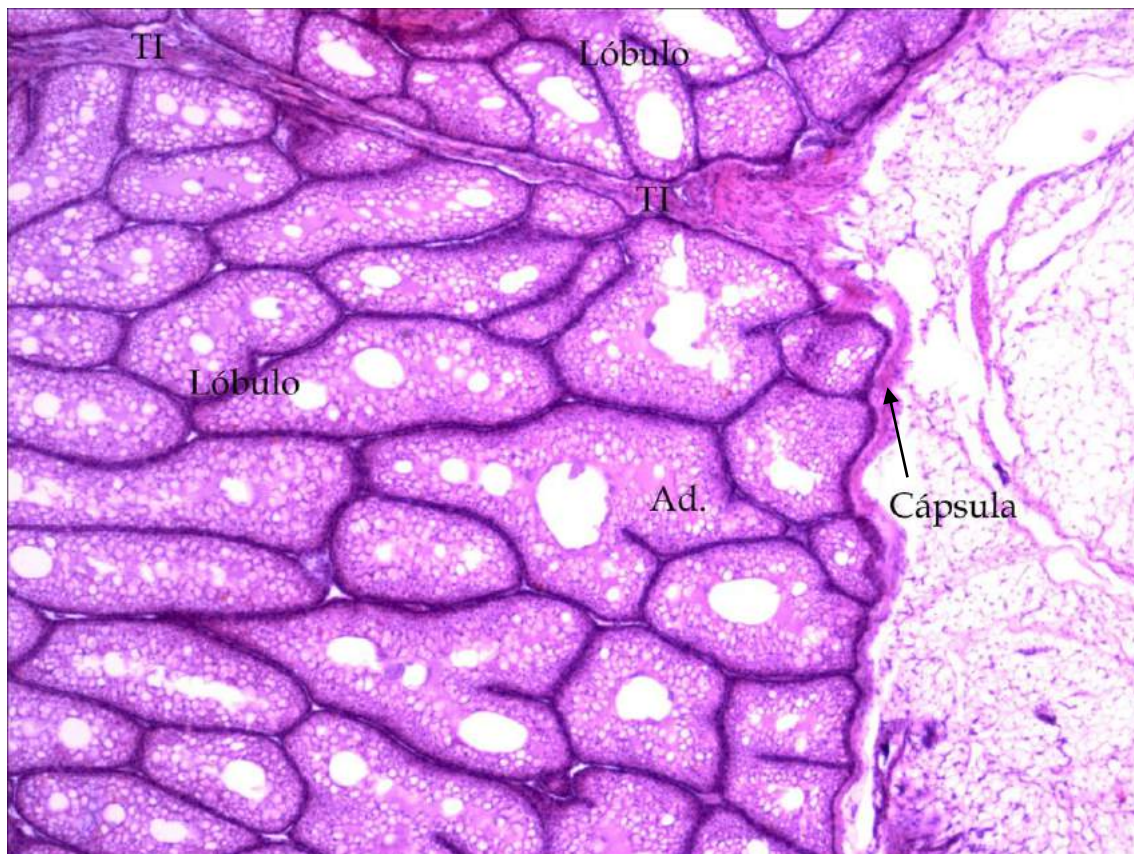


Figura 105: Corte longitudinal de la glándula uropigia de la cotorra común. Se observa la cápsula de tejido conectivo denso que rodea ambos lóbulos y el nacimiento del tabique interlobular. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómeros, TI: tabique interlaveolar.

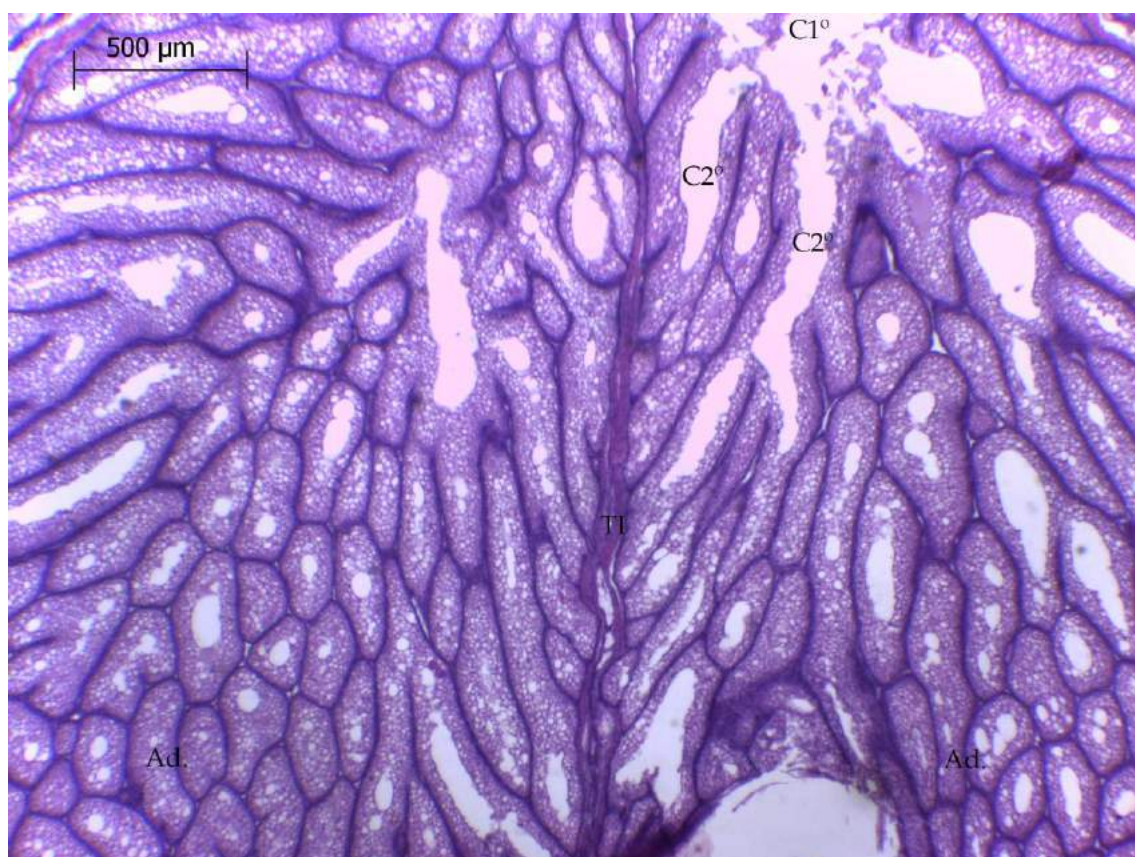


Figura 106: Corte longitudinal de la glándula uropigia de la cotorra común. Se observan ambos lóbulos y las cámaras secundarias desembocando en la cámara primaria de almacenamiento. Hematoxilina-Eosina 4X. Ad: adenómero, C1°: cámara primaria de almacenamiento, C2°: cámaras secundarias, TI: tabique interlobular.

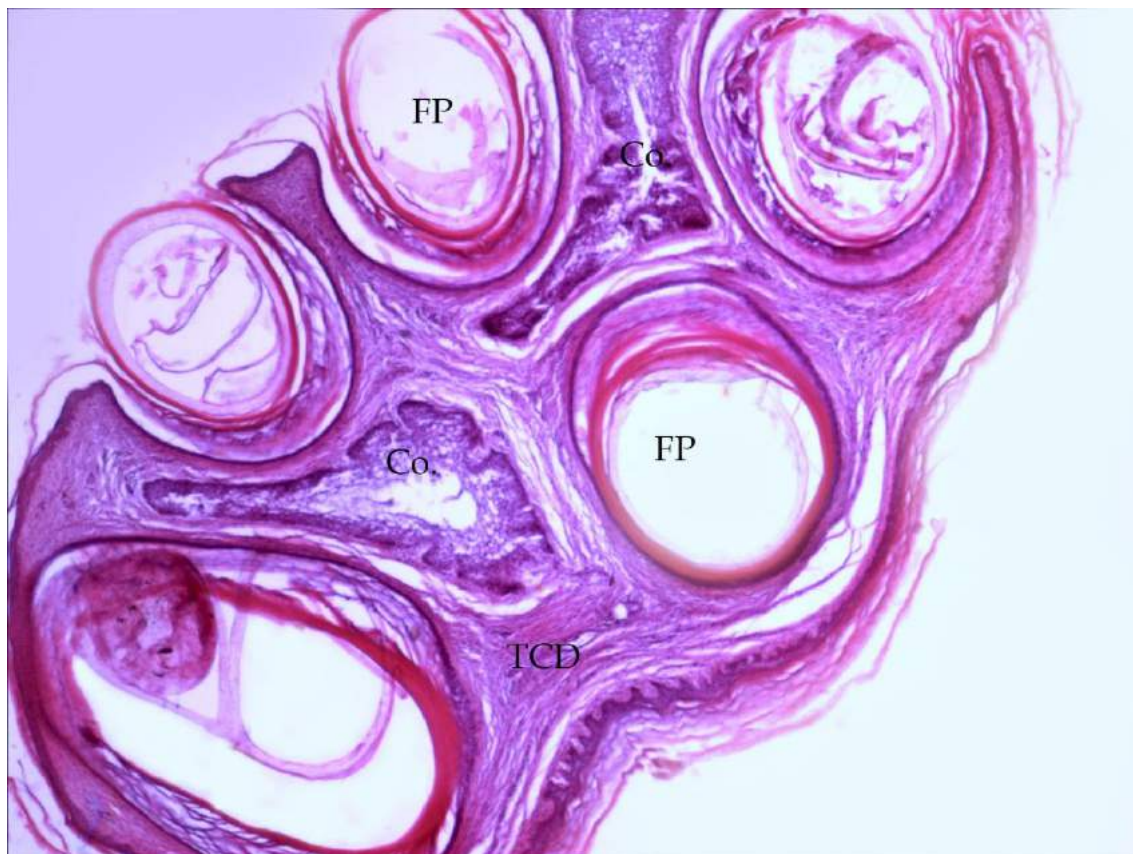


Figura 107: Papila de la glándula uropigia de la cotorra común. Se observan los dos conductos rodeados por los folículos plumosos. Hematoxilina-Eosina 4X. Co: conductos excretores, FP: folículos plumosos, TCD: tejido conectivo denso.

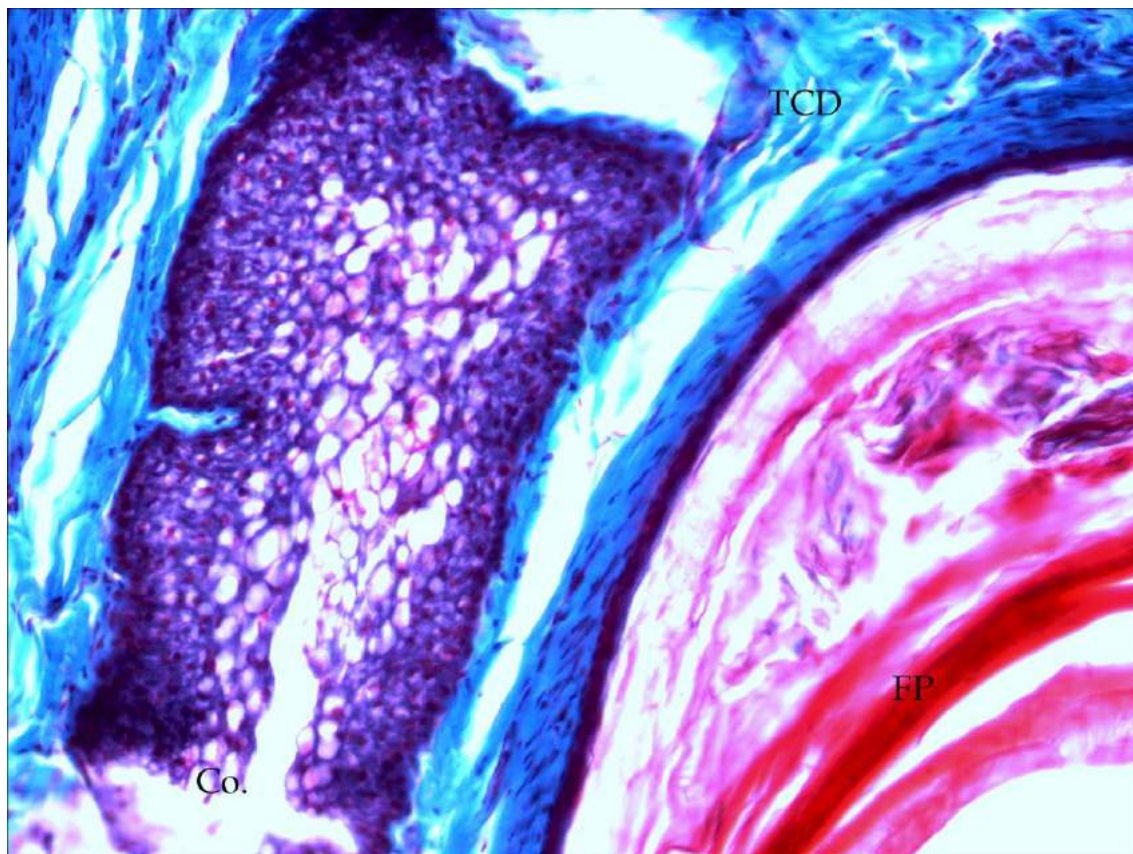


Figura 108: Detalle del conducto excretor de la glándula uropigia de la cotorra. Tricrómico de Gomori 20X. Co: conducto excretor, FP: foliculo plumoso, TCD: tejido conectivo denso.

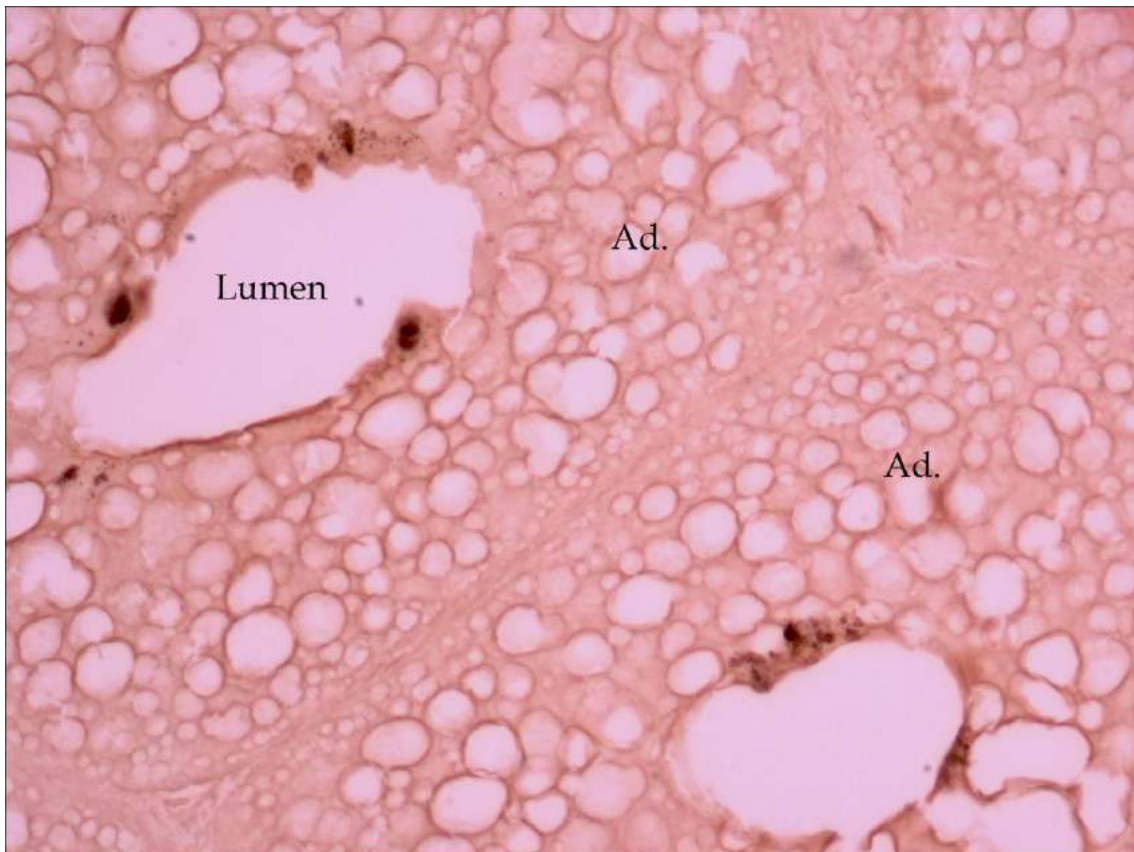


Figura 109: Corte transversal de los adenómeros de la glándula uropigia de la cotorra común. Se observa una marcación positiva frente a la técnica. UEA-I 20X. Ad: adenómeros.



Figura 110: Detalle de un adenómero de la glándula uropigia de la cotorra común. WGA 20X.
Ad: adenómero.

TORCAZA *Zenaida auriculata*

En la Torcaza, la glándula uropigia tiene forma de gota. Está compuesta por dos lóbulos y una papila alargada, sin pincel de plumas (Fig. 111).

La cápsula que rodea a la glándula, el tabique interlobular y el tejido conectivo entre los adenómeros son delgados, ricos en fibras colágenas y con abundantes fibras reticulares (Fig. 112) y fibras elásticas (Fig. 113). No se observaron fibras musculares lisas en ninguna de estas estructuras; tampoco son evidentes en la papila.

Los adenómeros son tubulares, poco ramificados y no se distingue una clara división entre las distintas zonas en las que se puede dividir un lóbulo (Fig. 114), ya que existe una gran cámara primaria de almacenamiento que ocupa una gran parte de la glándula. El epitelio de los adenómeros está compuesto por una capa de células en el estrato basal, 1-2 capas celulares en el estrato intermedio, 3-4 capas de estrato secretor y 1-2 capas de células formando el estrato degenerativo. El epitelio de la cámara no posee aspecto secretor y está cornificado. A partir de esta cámara, surgen los conductos excretores que se introducen en la papila (Fig. 114).

En esta glándula, la papila es de tipo delicado, posee dos poros excretores, uno por lóbulo y está formada por abundantes fibras colágenas (Fig. 115) y algunas reticulares. Una característica destacable es la presencia de corpúsculos de Herbst pese a la ausencia de folículos plumosos (Fig. 116).

Técnicas histoquímicas

Se observó positividad para PAS y AA pH 2.5. La PAS positividad pudo observarse en las células del estrato basal, la membrana basal y en la secreción (Fig. 117); la reacción al AA pH 2.5 también pudo observarse en las células germinativas y en la capa degenerativa. Las otras técnicas histoquímicas fueron negativas (Tabla 27).

Tabla 27: Resumen de las reacciones a distintas técnicas histoquímicas de la glándula uropigia de la torcaza (*Zenaida auriculata*).

Técnica	Cél. Germinativas	Adenómero	Capa degenerativa	Secreción
PAS	+	-	++	+
AA 2.5	+	-	+	+
AA 1	-	-	-	-
AA 0.5	-	-	-	-
AA-PAS	+	-	++	+

PAS: ácido peryodico de Schiff, AA: azul alcían. (-), negativo; (+), reacción débil; (++) , reacción moderada; (+++), reacción fuerte.

Lectinhistoquímica

La glándula uropigia de la torcaza mostró positividad para algunas lectinas (Figs. 118-119) que se detallan en la Tabla 28.

Tabla 28: Lectinhistoquímica en las distintas zonas de los adenómeros de la glándula uropigia de la torcaza (*Zenaida auriculata*).

Lectinas	Zona I	Zona II	Zona III	Secreción
CON A	+	+	+	+
WGA	+++	+++	+++	+++
sWGA	-	-	-	-
LEA	+	+	+	+
SBA	-	-	-	-
PNA	+	+	+	+
RCA-I	+++	+++	+++	+++
BSA-I	-	-	-	-
UEA I				

Técnicas inmunohistoquímicas

El anticuerpo antipancitoqueratina reaccionó positivamente marcando el epitelio de los adenómeros de la glándula uropigia de la torcaza (Fig. 120).

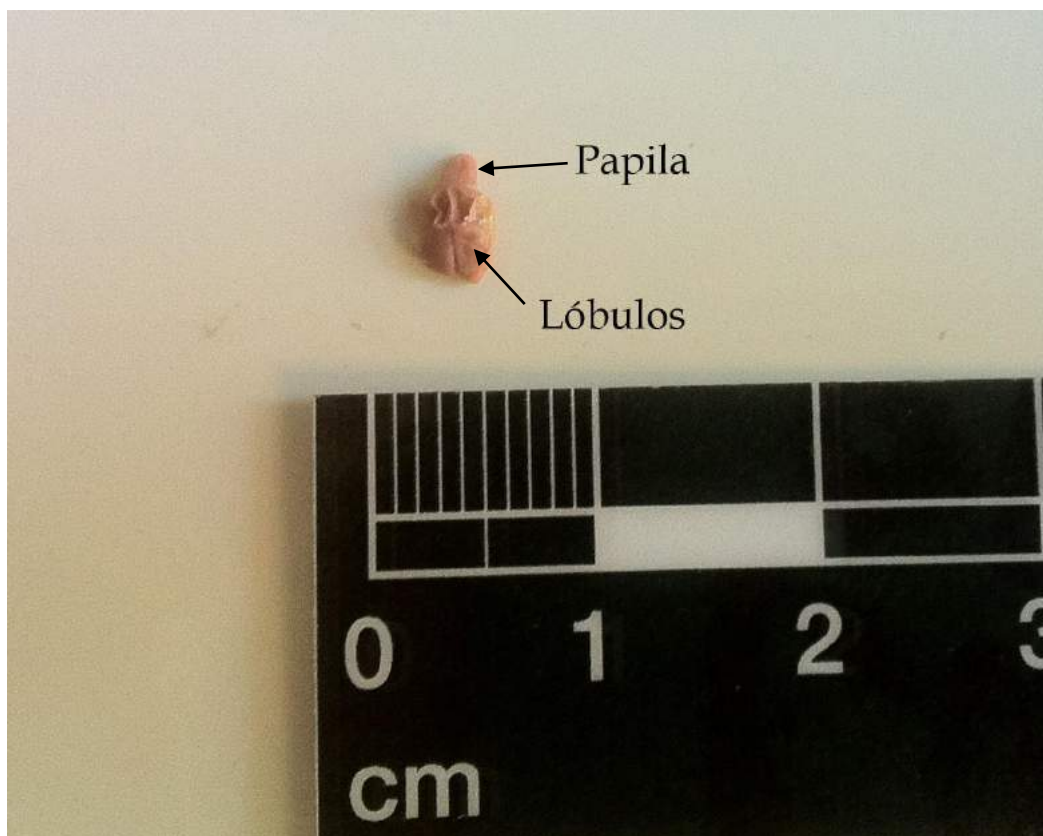


Figura 111: Glándula uropigia de la torcaza (*Zenaida auriculata*).



Figura 112: Glándula uropigia de la torcaza común. Las flechas indican la presencia de fibras reticulares en el tabique y en el tejido interalveolar. Reticulina de Gomori 20X. Ad: adenómeros, TI: tabique interlobular.

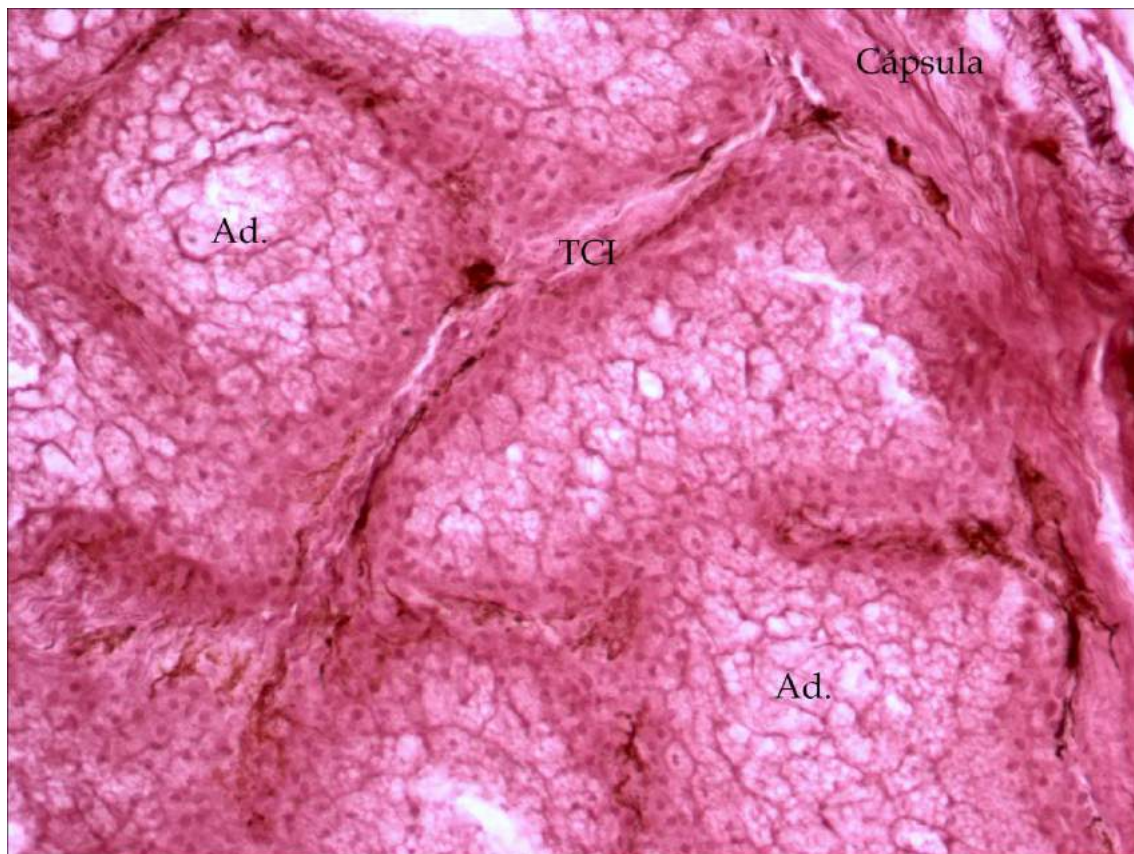


Figura 113: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia de la torcaza. Las flechas señalan las fibras elásticas. Orceína 20X. Ad: adenómeros, TCI: tejido conectivo interalveolar.

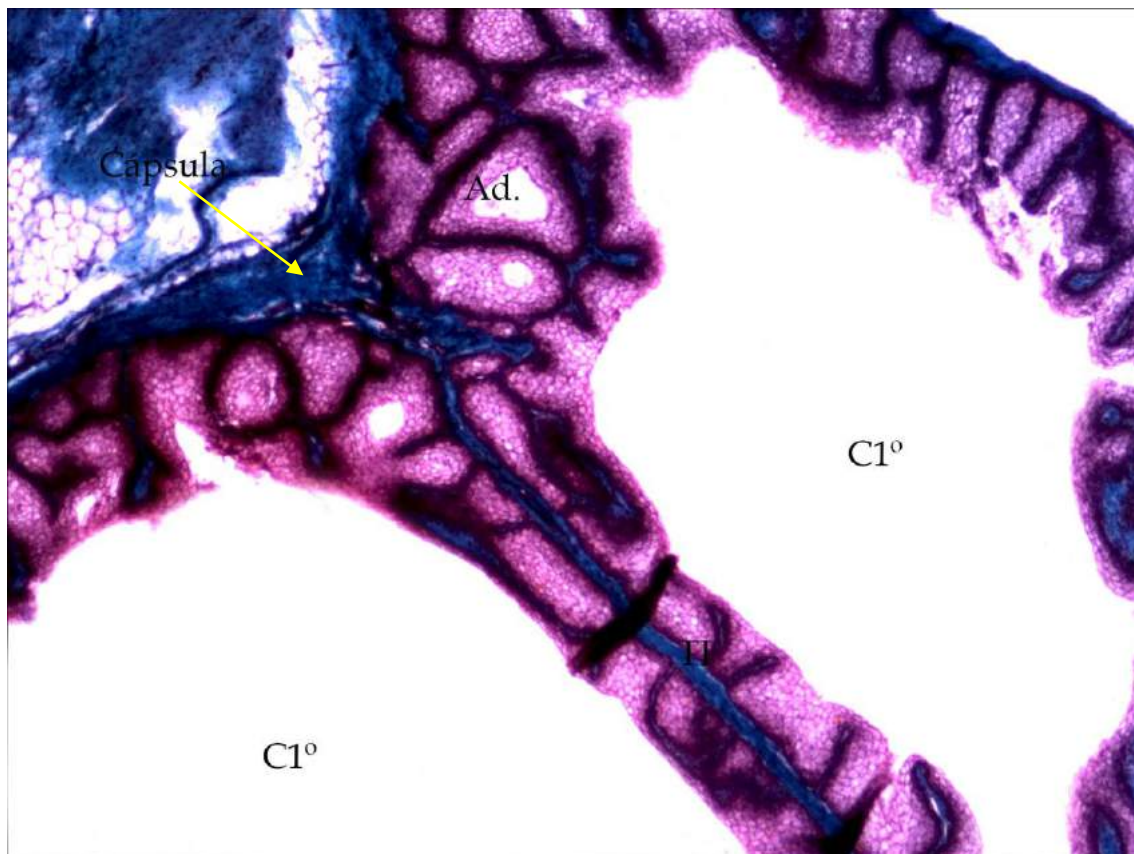


Figura 114: Corte longitudinal de la glándula uropigia de la torcaza común. Se pueden observar ambos lóbulos separados por el tabique interlobular y la presencia de una gran cámara primaria de almacenamiento. Tricrómico de Gomori 4X. Ad: adenómeros, C1°: cámaras primarias.

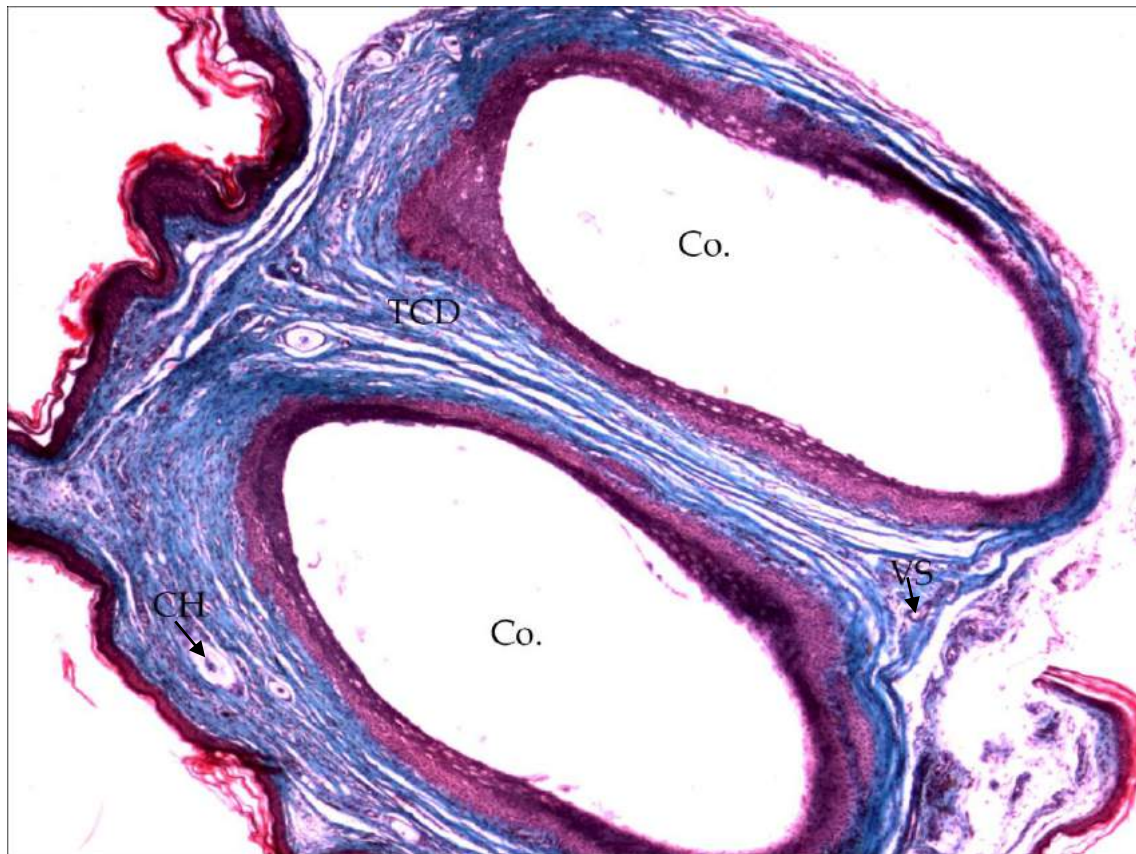


Figura 115: Corte transversal de la papila de la glándula uropigia de la torcaza común. Tricrómico de Gomori 4X. CH: corpúsculo de Herbst, Co: conductos excretores, TCD: tejido conectivo denso, VS: vaso sanguíneo.

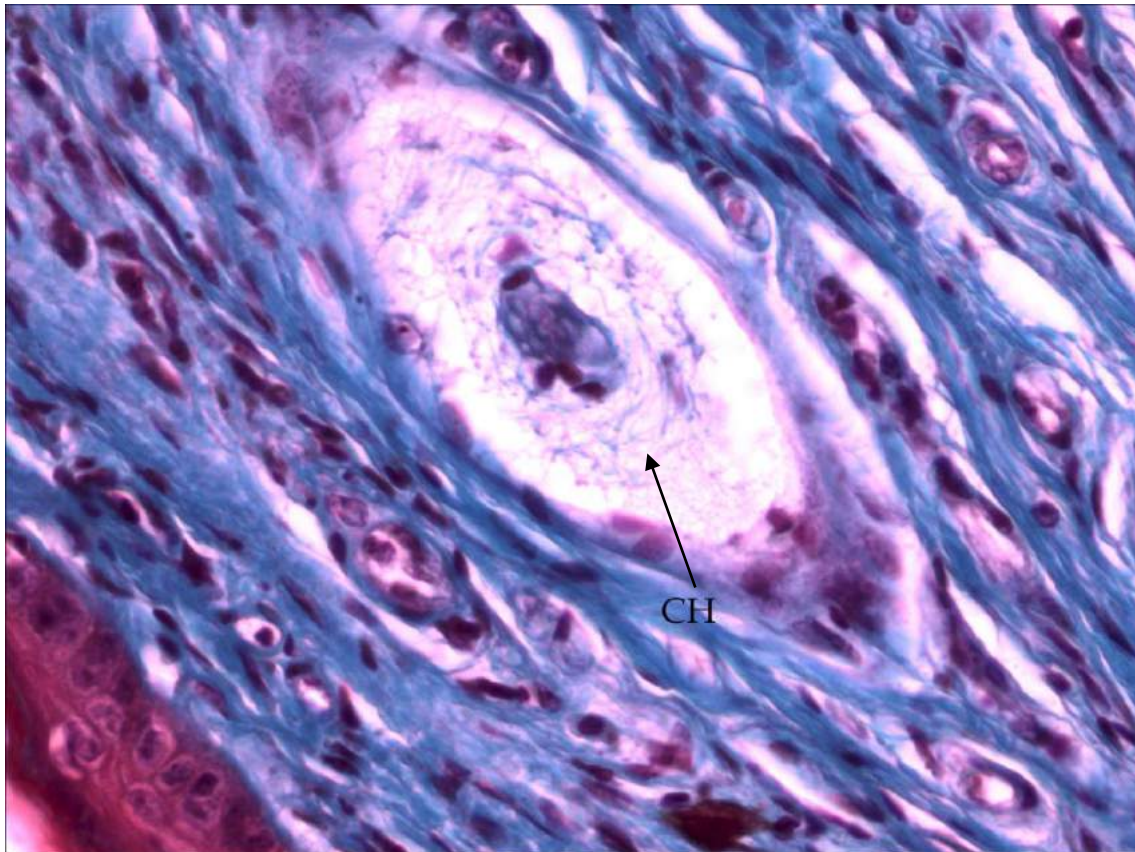


Figura 116: Detalle de un corpúsculo de Herbst en la papila de la glándula uropigia de la torcaza común. Tricrómico de Gomori 40X. CH: corpúsculo de Herbst.

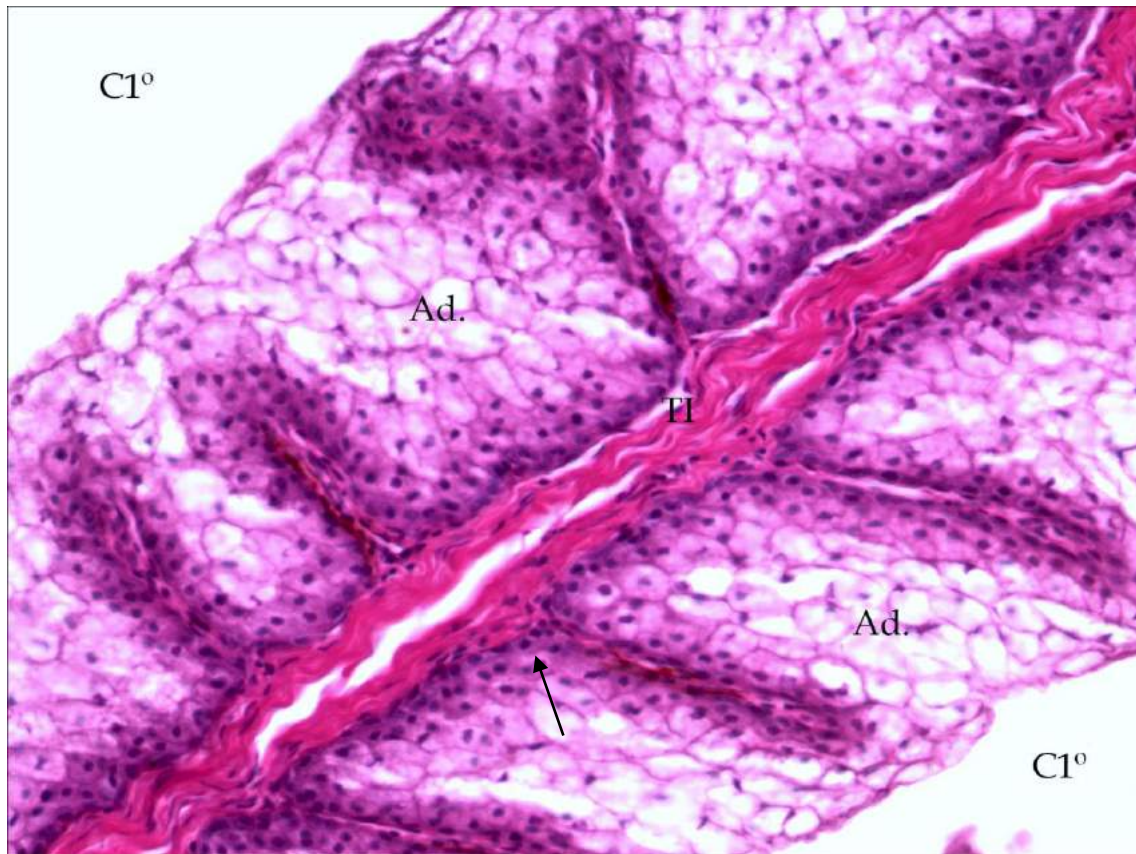


Figura 117: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia de la torcaza común. La flecha indica la PAS positividad en el estrato basal de los adenómeros. PAS 20X. Ad: adenómeros, C1°: cámaras primarias, TI: tabique interalveolar.

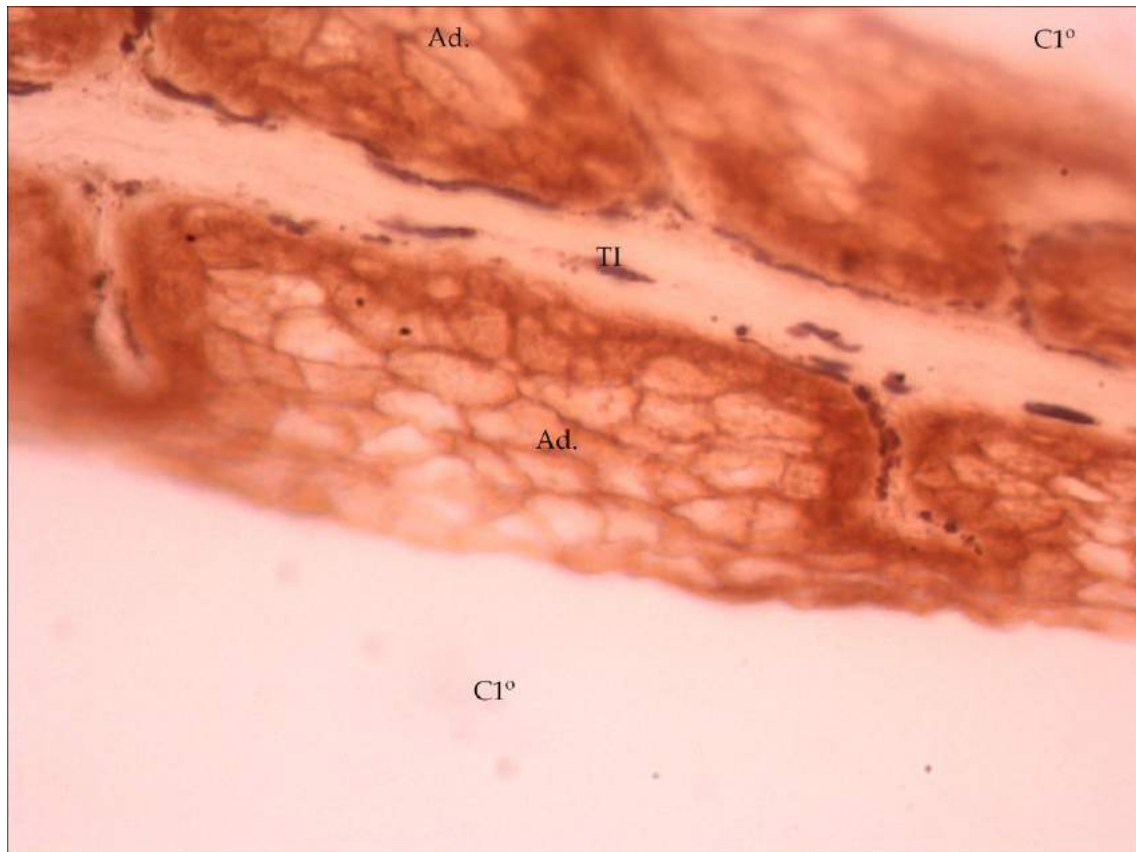


Figura 118: Detalle de los adenómeros de la glándula uropigia de la torcaza. PNA 40X. Ad: adenómeros, C1°: cámara primaria de almacenamiento, TI: tabique interlobular.

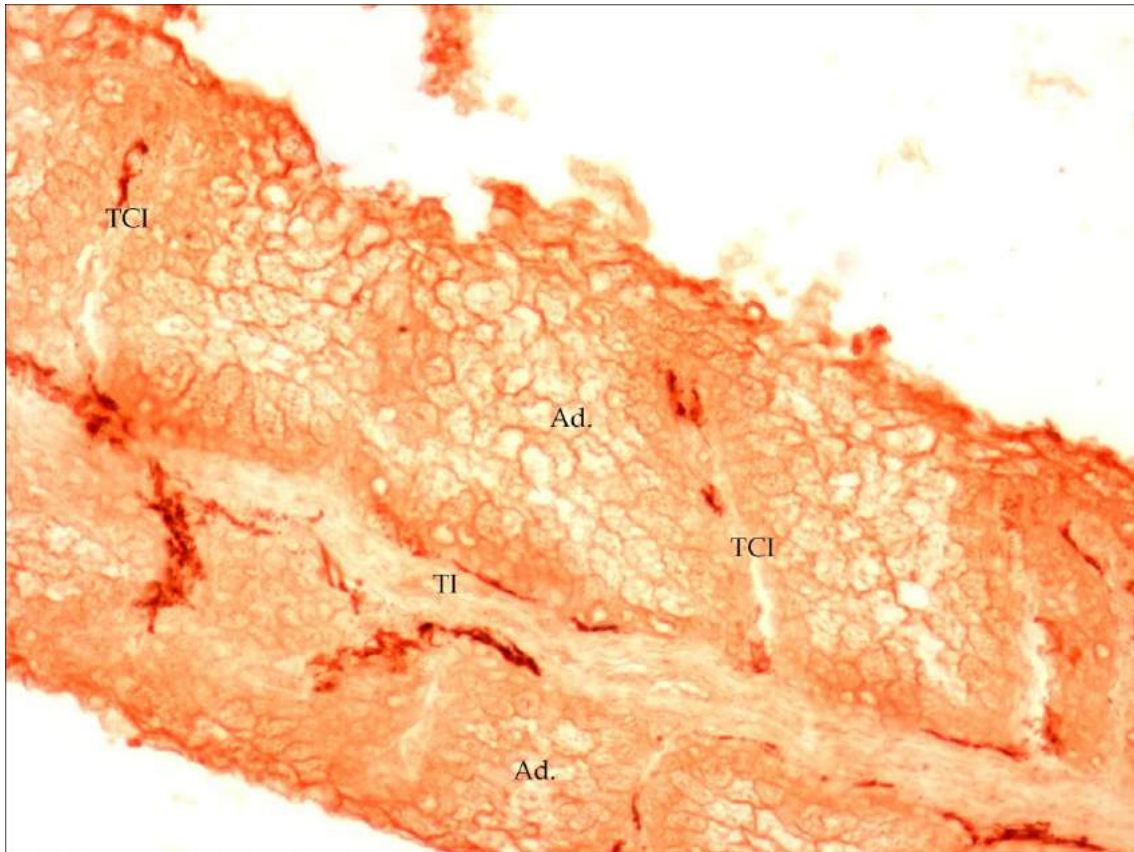


Figura 119: Adenómeros de la glándula uropigia de la torcaza. RCA-I 20X. Ad: adenómeros, TCI: tejido interalveolar, TI: tabique interlobular.

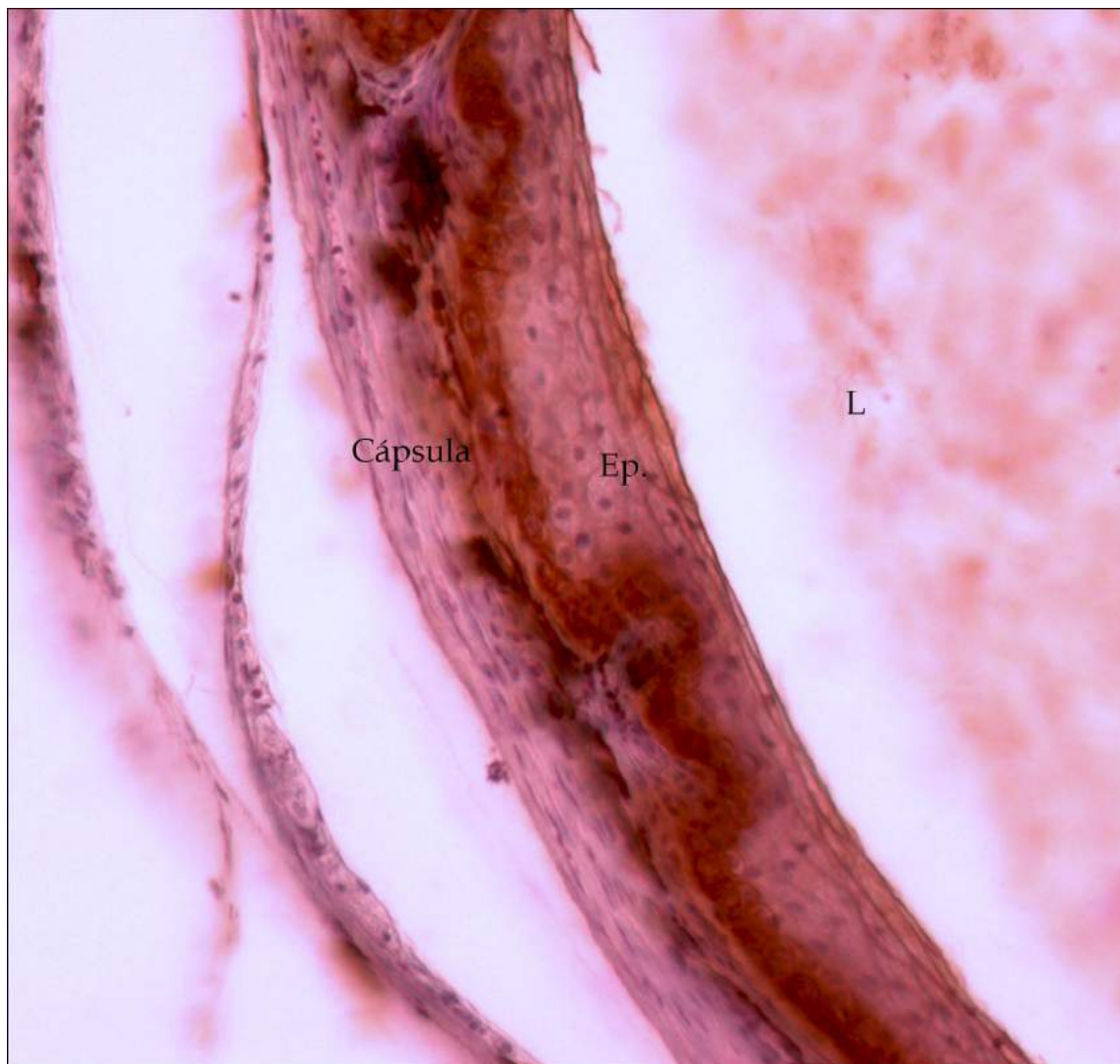


Figura 120: Detalle de un conducto de la glándula uropigia de la torcaza. Citoqueratina 20X. Ep: epitelio, L: lumen.

Capítulo VII

Secreción uropigial



Perfil de lípidos de la secreción uropigial de flamencos

Los lípidos mayoritarios en la secreción uropigial de esta especie son en su mayoría ceras. Debido a que se sabía a qué sexo pertenecía cada muestra se pudieron comparar los perfiles entre machos y hembras y no se encontraron diferencias (Fig. 125). También se pudo identificar la presencia de triglicéridos y alcoholes grasos aunque ese encontró en menor concentración que las ceras. En la Fig. 125 también pueden observarse fracciones de lípidos más polares.

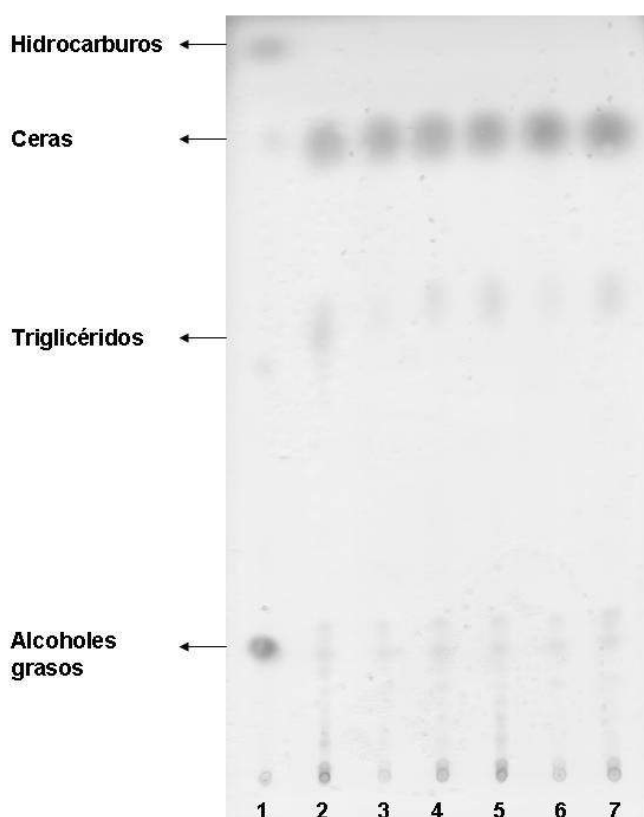


Figura 125: Cromatografía de capa fina (TLC) de la secreción uropigial de flamencos. En la calle 1 se sembró una mezcla estándar de lípidos, las calles 2, 3 y 4 corresponden a los lípidos totales de la secreción uropigial de machos y 5, 6 y 7 corresponden a muestras de hembras.

La purificación de las ceras de las muestras de lípidos totales de la secreción uropigial de flamencos se muestra en la Fig 126. La muestra 4 se corrió por separado durante una prueba de la técnica (Fig. 127).

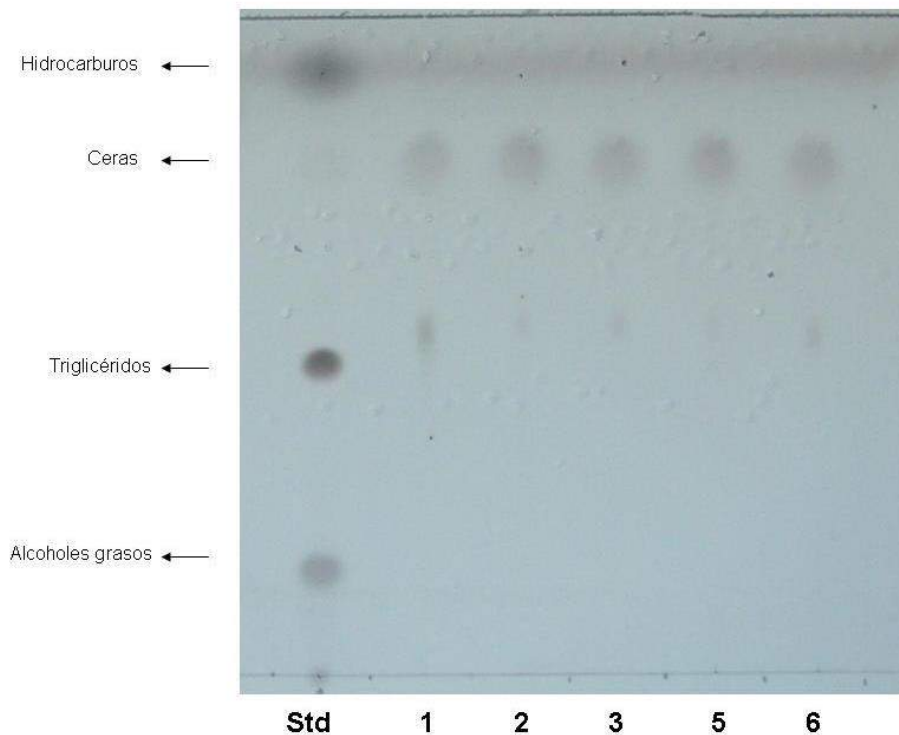


Figura 126: Cromatografía en capa fina de las ceras de la secreción uropigial de flamencos obtenidas a partir de la cromatografía en columna de lípidos totales.

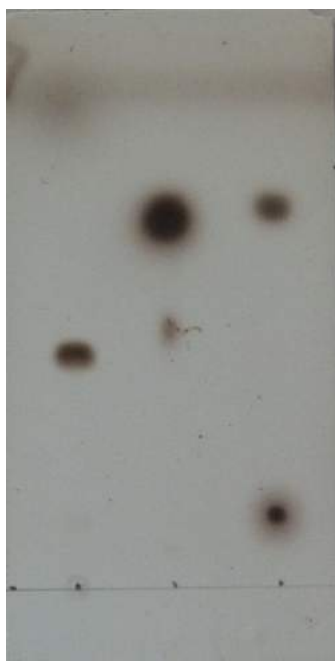


Figura 127: Cromatografía de capa fina de las ceras de la muestra 4. De izquierda a derecha, la calle 1 corresponde a hidrocarburos y triglicéridos, en la calle 2 se sembró la muestra y la calle 3 contiene estándares de ceras y alcoholes grasos.

Análisis de la composición de ácidos grasos y alcoholes grasos mediante espectrometría de masas

La mayoría de los ácidos grasos que componen las ceras de la secreción uropigial de los flamencos son saturados y con metilaciones de posición variable dentro de la cadena carbonada.

Ácidos grasos de ceras de glándula uropigia de flamencos

2,x-dimetil C 9:0

2,x-dimetil C 10:0

2,x,y-trimetil C 10:0

2,x,y-trimetil C 10:0

2,x-dimetil C 11:0

2,x-dimetil C 11:0

C 12:0

4-metil C 12:0

2,x,y-trimetil C 11:0

2,x,y-trimetil C 11:0

2,x,y-trimetil C 11:0

2,x-dimetil C 13:0

C 14:0

2,x,y-trimetil C 13:0

C 15:0

C 16:1

C 16:0

C 17:0

C 18:1

C 18:0

Longitud de cadena de alcoholes grasos de ceras de glándula uropigia de flamencos

C12

C13
C14
C15
C16
C17
C18

Perfil de lípidos de la secreción uropigial de la lechucita de las vizcacheras

A partir de la cromatografía de capa fina (TLC) se pudo observar que la secreción uropigial de la lechucita de las vizcacheras está compuesta casi exclusivamente por ceras. También se puede observar la presencia de algunos lípidos más polares (Fig. 128). No se observan triglicéridos o hidrocarburos mediante la técnica realizada.

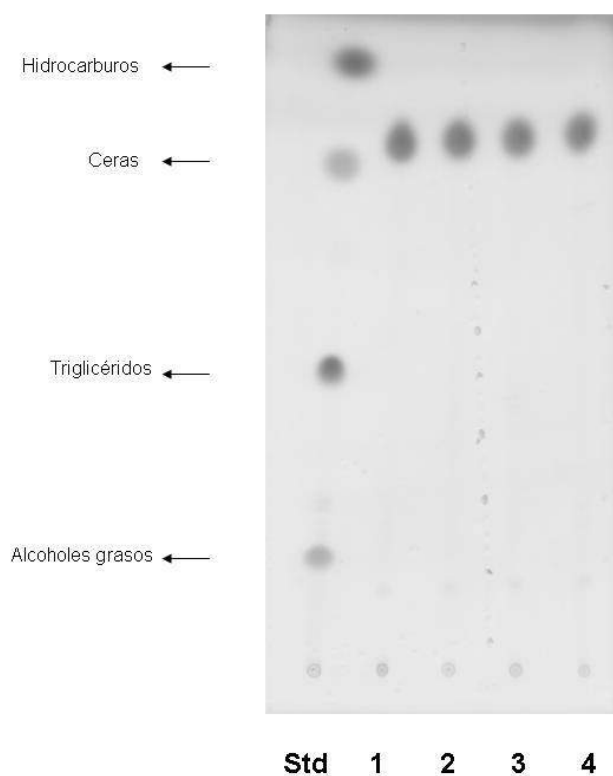


Figura 128: Cromatografía de capa fina (TLC) de la secreción uropigial de la lechucita de las vizcacheras. La calle 1 corresponde a una mezcla estándar de lípidos.

Capítulo VIII

Discusión



DISCUSIÓN

La glándula uropigia de las aves presenta diversas formas y grado de desarrollo. Este órgano está ausente en varios grupos de aves. Dentro de las familias con especies que carecen de glándula uropigia encontramos a Columbidae (Garrod 1874, Grassé 1950), Psittacidae (Johnston 1988, Chiale 2010) y Picidae (Johnston 1988). En este trabajo se analizó una especie perteneciente a la familia Psittacidae (cotorra común *Myiopsitta monachus*) y otra a la Columbidae (torcaza *Zenaida auriculata*) y poseen los valores más bajos tanto de masas glandulares absolutas como de tamaño glandular relativo, aunque en ambos casos las glándulas poseían características morfológicas que indican que son funcionales.

Masa glandular relativa entre ambientes terrestre y acuático:

Varios autores sostienen que la glándula uropigia se encuentra más desarrollada en aquellas especies que tienen un vínculo estrecho con el agua (Elder 1954, Kennedy 1971, Lucas & Stettenheim 1972, Jacob & Ziswiler 1982, Johnston 1988, Møller et al. 2010, Vincze et al. 2013). Este aspecto de la glándula uropigia fue investigado y relacionado con la función del mantenimiento del plumaje que cumple la secreción uropigial. Teniendo en cuenta esta función, se sostuvo que las aves acuáticas poseen un mayor desarrollo de la glándula uropigia (Elder 1954, Jacob & Ziswiler 1982, Johnston 1988). En este trabajo se observó que las aves vinculadas a un ambiente acuático tienen masas glandulares absolutas mayores que las aves terrestres, tal como lo sugirieron Kennedy (1971), Jacob & Ziswiler (1982), Johnston (1988) y Møller et al. (2010). En cuanto a la masa glandular relativa comparada por ambientes (terrestre y acuático), encontramos que hay una diferencia muy significativa, las aves acuáticas poseen un tamaño glandular relativo más elevado que las especies terrestres; este resultado también concuerda con lo propuesto previamente por otros autores (Elder 1954, Jacob & Ziswiler 1982, Johnston 1988 y Møller et al. 2010). Sin embargo, Montalti & Salibián (2000) postularon que no hay diferencias respecto a la masa glandular relativa a la masa corporal entre aves con distintos grados de contacto con el agua ya que encontraron especies acuáticas con tamaños glandulares relativos similares a aves terrestres (pato maicero *Anas georgica* media=0,306 vs pirincho *Guira guira* media=0,296; pingüino de Adelia *Pygoscelis adeliae* media=0,159 vs carpintero campestre *Colaptes campestris* media=0,174).

El hecho de que las aves acuáticas posean un mayor masa glandular relativa que las aves terrestres puede deberse a que el ambiente acuático podría influenciar en el requerimiento de secreción uropigial para mantener las condiciones físicas del plumaje y también evitar la degradación de las plumas por estar en contacto con un ambiente húmedo. La contribución de la secreción uropigial al mantenimiento del plumaje fue ampliamente estudiado mediante algunos experimentos; Sick (1964) alteró la tensión superficial del agua y demostró que ésta es fundamental en la flotabilidad de los patos ya que al estar alterada, las plumas se empapaban y los patos comenzaban a hundirse. Esto demostró que la estructura propia de la pluma es la que tiene un papel decisivo en la protección de las aves contra el agua y que la secreción uropigial conservaría a las plumas en buen estado para permitirle a las plumas cumplir su función hidrofóbica. Es importante destacar que las aves acuáticas podrían necesitar utilizar la secreción uropigial más a menudo que las aves terrestres; esto podría verse reflejado mediante la ausencia de una cámara primaria de almacenamiento y un pincel de plumas más desarrollado y saturado de secreción en las aves acuáticas con un alto grado de contacto con el agua.

También se pudo determinar que existe una alometría negativa con respecto a la masa glandular relativa y la masa corporal; aves de menor masa corporal absoluta poseen tamaños glandulares relativos mayores que aquellas con masas corporales más grandes. Este punto lo discuten Kennedy (1971) y Jacob & Ziswiler (1982), quienes sostuvieron que debería tenerse en cuenta el aspecto alométrico al momento de comparar los tamaños glandulares relativos. En esta tesis se encontró una excepción al respecto; dentro de las aves terrestres, el chimango fue el que tuvo el mayor valor de tamaño glandular relativo, siendo una de las aves con mayor masa corporal dentro de este grupo. Esta diferencia podría estar vinculada a los hábitos carroñeros de esta especie y, por ende, a la función microbicida de la secreción uropigial. Sin embargo, si comparamos las dos especies de la familia Falconidae que se estudiaron en esta tesis se corrobora la relación alométrica negativa del tamaño glandular relativo (el chimango tiene menor masa corporal y mayor tamaño glandular relativo, mientras que el carancho posee mayor masa corporal y un tamaño glandular relativo más pequeño aunque también sea una especie carroñera). Coincidiendo con lo propuesto por Montalti & Salibián (2000), las aves terrestres mostraron una gran variabilidad del tamaño glandular relativo, inclusive fue posible observar el menor valor en la torcaza

(*Zenaida auriculata*), un ave perteneciente a una familia en la cual algunas especies carecen de glándula uropigia.

Otro punto importante para considerar con respecto a la comparación de la masa glandular relativa entre aves de distintos ambientes es la variación de la masa corporal que está determinada por la grasa almacenada en el cuerpo de las aves (Leberman 1967); en un mismo individuo ésta puede variar por diferentes condiciones (diferencias entre periodos de reproducción y no reproducción, momento del día, edad, etc.), por lo tanto los resultados pueden ser variables. También deberán considerarse los cambios de tamaño que puede sufrir la glándula uropigia debido a un ritmo circanual de crecimiento cuyo pico se alcanza durante el período reproductivo como lo postularon Chowdhury & Bhattacharyya (1989), y más recientemente Vincze et al. (2013), quienes también demostraron que el tamaño de la glándula uropigia es dinámico, aumentando en el período de reproducción, independientemente del sexo de las aves.

Variaciones del pincel de plumas:

En cuanto a la cantidad de plumas que conforman el pincel, en este trabajo se observó que las aves vinculadas a un ambiente acuático poseen un número mayor de plumas que las aves terrestres, lo que coincide con datos publicados por otros autores (Jacob & Ziswiler 1982, Johnston 1988, Chiale & Montalti 2013). Todas las aves acuáticas, sin excepción, tienen pincel de plumas; en cambio, en las aves terrestres esta estructura puede faltar por completo como ocurre por ejemplo en el orden Passeriformes (Jacob & Ziswiler 1982, Johnston 1988). Además de ser más abundantes, las plumas del pincel de las aves acuáticas también tienen mayor tamaño que las que poseen las aves terrestres (Chiale & Montalti 2013); tanto la cantidad como el tamaño de las plumas podrían relacionarse con una función de reservorio de la secreción en aves acuáticas. En estas aves, el pincel de plumas siempre se encuentra saturado con secreción uropigial (Schumacher 1919), mientras que en las aves terrestres las plumas no presentan este acúmulo de secreción (obs. pers.). También se puede observar que las aves terrestres recurren a presionar los lóbulos de la glándula uropigia con el pico para obtener la secreción.

Por otro lado, también se encontró que las aves que forman colonias poseen un pincel de plumas más desarrollado que aquellas que son solitarias; esta diferencia podría relacionarse con una función de producción de sustancias odoríferas que quedan

atrapadas en el pincel de plumas y servirían para el reconocimiento de individuos conespecíficos (Galván & Møller 2013). Esto es un punto interesante ya que en este trabajo se estudiaron especies de aves coloniales, como por ejemplo pingüinos, flamenco austral y biguá, y en estos casos los pinceles son muy desarrollados lo que podría apoyar la hipótesis de Galván & Møller (2013).

El tipo predominante de plumas de pincel según la clasificación de Johnston (1988) es el I, descrito como plumón por Lucas & Stettenheim (1972). En este trabajo, la mayoría de las especies analizadas tienen plumas del pincel de este tipo, independientemente del ambiente que ocupen. Una situación particular ocurre con los pingüinos, quienes presentaron otro tipo de plumas del pincel; Johnston (1988) encontró en los Sphenisciformes un tipo de pluma con raquis (Tipo II, similar a una semipluma) pero las barbas sólo están presente en ambos extremos del raquis (superior e inferior) y denominó a este tipo de pluma como IIa. En los pingüinos analizados en este trabajo se pudo observar que las barbas surgen a lo largo de todo el raquis, correspondiéndose con plumas de Tipo II. También se encontraron diferencias para las plumas del pincel de los flamencos. Según Johnston (1988), quien analizó plumas del pincel de todos los géneros de la familia Phoenicopteridae (*Phoenicopterus*, *Phoenicoparrus* y *Phoeniconaias*), estas aves poseen plumas de Tipo IIa; en este trabajo se encontró que el flamenco austral posee plumas Tipo I. Debido a que el flamenco austral pertenece al género *Phoenicopterus* es difícil pensar que sólo esta especie se diferencie de las otras dos. En el análisis de las plumas del pincel de la familia Phoenicopteridae por parte de Johnston (1988) pudo haber ocurrido una confusión, ya que la piel que recubre la glándula uropigia en los flamencos posee plumas con raquis (obs. pers.) y los autores precedentes pueden haberse confundido con las plumas del pincel propiamente dicho.

Diferencias histológicas entre aves acuáticas y terrestres:

En este trabajo, las descripciones generales de las glándulas uropigias de las distintas especies estudiadas coinciden con aquellas realizadas previamente para otras especies de aves, tanto acuáticas como terrestres (Lucas & Stettenheim 1972, Jacob & Ziswiler 1982, Bo 1953). La mayoría de las descripciones histológicas no hacen una referencia a las diferencias entre aves de distintos ambientes. Sin embargo, en este estudio se encontró que las especies acuáticas analizadas carecen de cámara primaria de almacenamiento, constituyendo ésta una diferencia importante entre aves de distintos

ambientes. Algunos autores encontraron una cámara primaria de almacenamiento en especies con algún grado de relación con el agua como los martines pescadores (genero *Alcedo*) (Jacob & Ziswiler 1982), el águila pescadora *Pandion haliaetus* (Harem et al. 2010) y la cigüeña blanca *Ciconia ciconia* (Kozlu et al. 2011). Jacob & Ziswiler (1982) mencionan la presencia de una cavidad primaria en Phoenicopteriformes y Pelecaniformes, y Bo (1953) confirma la presencia de esta estructura en la glándula uropigia del biguá (*Phalacrocorax brasilianus*). Sin embargo, en las muestras analizadas en el presente estudio la cámara primaria está ausente tanto en el flamenco austral como en el biguá. Siguiendo con las aves acuáticas, en este trabajo solo se encontró una pequeña cámara primaria de almacenamiento en los petreles de las tormentas, quienes dentro del grupo de aves acuáticas estudiado, son las que tienen menos contacto con el agua (Chiale et al. 2014). En todas las aves terrestres analizadas fue posible encontrar cámara primaria lo que coincide con lo descrito en otras especies de aves terrestres del orden Falconiformes, algunas especies de búhos (géneros *Bubo* y *Asio*), guacamayos y loros (géneros *Ara*, *Pionites* y *Aratinga*) y palomas (*Columba livia*) (Jacob & Ziswiler 1982). En el caso particular de la lechucita de las vizcacheras (*Athene cunicularia*) se observó la presencia de una gran cámara primaria de almacenamiento, lo que se opone a lo postulado por Jacob & Ziswiler (1982) para la lechuza europea *Athene noctua*, en la cual no se observó ésta cámara.

Un aspecto interesante que explora este trabajo es la composición distintiva del estroma de la glándula uropigia, encontrando fibras elásticas y reticulares además de las fibras colágenas que forman tanto la cápsula como el tabique interlobular y el tejido conectivo interalveolar. La presencia de fibras elásticas podría estar asociada a la distensión de este órgano, es posible que al almacenar secreción uropigial la glándula se distienda permitiendo que esto ocurra. En aquellos órganos que presentan este tipo de fibras (p.e., pulmones y aorta), la función de las mismas se encuentra asociada a la distensión ya que estas fibras pueden estirarse hasta 1,5 veces su longitud y vuelven a su tamaño original cuando desaparece la tensión que las estira (Fawcett 1995).

Otro tipo de fibras, las reticulares están constituidas por colágeno tipo III y son especialmente abundantes en los espacios intercelulares del músculo liso, alrededor de los acinos de las glándulas y por fuera del epitelio de los órganos huecos que están sometidos a cambios en su volumen (vasos sanguíneos, intestino, vejiga y útero) (Fawcett 1995). En la glándula uropigia son especialmente abundantes en el tejido

conectivo que rodea los adenómeros y podrían también colaborar en el cambio de volumen de la glándula.

La papila de la glándula uropigia es la región donde se encuentran los poros excretores y el pincel de plumas cuando está presente. Por lo general, las aves estudiadas poseen dos poros excretores (Jacob & Ziswiler 1982), los resultados de este trabajo coinciden en este aspecto ya que la mayoría de las especies analizadas poseen esta cantidad de orificios (pingüinos, petreles de las tormentas, macá tobiano, chimango, carancho, cotorra común y torcaza). Se describió una mayor cantidad de poros excretores en cormoranes (género *Phalacrocorax*) (Jacob & Ziswiler 1982), flamenco americano (*Phoenicopterus ruber*) y la mayoría de los láridos (Jacob & Ziswiler 1982) con lo cual este trabajo también concuerda, ya que tanto en el biguá como en el flamenco austral y los skúas, el número de poros excretores es mayor a dos. Un caso particular lo constituye la cantidad de poros excretores en la papila de la lechucita de las vizcacheras, que son cuatro (dos por lóbulo); no hay información bibliográfica para esta especie pero si hay datos para otras especies de Strigiformes en las que en todos los casos, se encontraron dos poros excretores (*Tyto alba*, *Athene noctua*, *Asio otus*, *Strix aluco* y *Bubo bubo*) (Jacob & Ziswiler 1982).

El estroma de la papila está compuesto por tejido conectivo denso y es posible encontrar en él, células adiposas, vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas (Lucas & Stettenheim 1972). El tipo de papila puede ser variable y según Jacob & Ziswiler (1982) es posible identificar cuatro tipos: compacta, intermedia, delicada y tipo "verruca" (típica de Passeriformes). Para la mayoría de los casos, los resultados de este trabajo coinciden con aquellos presentados por Jacob & Ziswiler (1982) para especies de los mismos órdenes o familias; los pingüinos poseen papilas compactas; el maca tobiano, la lechucita de las vizcacheras, la cotorra común, la torcaza, el chimango y el carancho los petreles de las tormentas tienen papilas de tipo delicado (aunque en la única especie de Procellariiformes que Jacob & Ziswiler (1982) analizan encuentran una papila intermedia) y el flamenco austral, los skúas y el biguá con papilas de tipo intermedio. En cambio, parece que no podría establecerse una relación entre el tipo de papila y el habitat, ya que ciertas aves acuáticas pueden tener el mismo tipo que algunas aves terrestres.

Las fibras musculares lisas que se observan en la papila de la glándula uropigia pueden tener distintas disposiciones, estar dispersas en el estroma o formando un

esfínter muscular alrededor de los poros excretores (Lucas & Stettenheim 1972); en este trabajo se encontraron fibras musculares lisas dentro de la papila pero nunca formando un esfínter alrededor de los poros excretores. Se puede observar que estas fibras musculares lisas están asociadas a los folículos de las plumas del pincel o, como en el caso de los pingüinos, pueden estar dispersas entre las fibras colágenas. Otras estructuras presentes en la papila son los corpúsculos de Herbst (Paris 1912); éstos son mecano-receptores y tienen una amplia distribución en la piel de las aves (Gottschaldt 1985). Por lo general, se encuentran asociados a los folículos plumosos (Dorward 1970). En la papila de la glándula uropigia de las distintas aves que conforman este trabajo, los corpúsculos de Herbst se encuentran situados en las cercanías de los folículos plumosos de las plumas del pincel. Sin embargo, fue posible encontrar estos corpúsculos en la glándula uropigia de la torcaza que carece de plumas en la papila. Esta situación concuerda con lo observado por Picasso et al. (2015), quienes encontraron corpúsculos de Herbst tanto en pterilos como en apterios de la piel del ñandú (*Rhea americana*) y proponen una función diferencial entre estos corpúsculos.

Histoquímica y lectinhistoquímica:

Algunos estudios han explorado las características histoquímicas de la glándula uropigia. Cater & Lawrie (1951), basados en un estudio histoquímico, dividen a los lóbulos de la glándula en dos zonas: sebácea (región más externa), caracterizada por adenómeros que se asemejan a las glándulas sebáceas de los mamíferos (Kossman 1871) (con estratos compuestos por células cuyos citoplasmas están llenos de pequeñas gotas lipídicas) y la zona interna o glicogénica definida por la presencia de gránulos de glucógeno en la capa celular basal de los túbulos (PAS positividad). Si bien, los estratos más cercanos al lumen contienen siempre abundantes vacuolas lipídicas, Kamiya et al. (1986) determinaron la presencia y distribución de polisacáridos en la glándula uropigia del ánade real (*Anas platyrhynchos*) que incluían glucógeno, mucopolisacáridos ácidos y glicoproteínas que contenían ácido siálico; además encontraron mucopolisacáridos ácidos y glicoproteínas con ácido siálico en los alveolos más externos, conductos excretores y como productos de la secreción, mientras que el glucógeno estuvo presente en alveolos internos y conductos excretores. Por otro lado, Montalti et al. (2001) encontraron mucinas ácidas y glicolípidos como componentes de la secreción uropigial de la paloma doméstica (*Columba livia*) junto con lípidos neutros y fosfolípidos. Nuestro trabajo muestra la presencia de una variedad de

mucopolisacáridos ácidos, sulfatados y carboxilados, y glucógeno en la gran mayoría de las especies analizadas. En la presente tesis, no se pudo hacer una distinción entre zona glicogénica y zona sebácea ya que en todas las porciones de los lóbulos y en la secreción la marcación con las diversas técnicas histoquímicas fue homogénea. En el presente trabajo hay una tendencia entre las aves que ocupan cuerpos de aguas continentales y aquellas especies terrestres a mostrar una marcación más intensa para las distintas técnicas de AA a distintos pHs, mientras que en las aves marinas solo fue posible determinar la presencia de glucógenos y glicoproteínas con grupos carboxilos y/o ésteres sulfatos debido a la marcación con PAS y AA pH 2.5 respectivamente. El hecho de encontrar PAS positividad y marcación positiva para alcianes en el estrato basal de los adenómeros indica que éstas células serían el lugar principal de producción de dichos compuestos; mientras que en los estratos intermedio y secretor se producen los lípidos que forman parte de la secreción (Suzuki 1994) pero las mucinas y glucógeno pueden quedar dentro de estas células aunque no se marquen claramente ya que preponderan las vacuolas que contienen lípidos y el material rico en carbohidratos puede quedar oculto o ser desplazado contra la membrana. Esto puede verse reflejado en la positividad de la secreción uropigial frente a éstas técnicas. Varios autores hacen referencia a las funciones antimicrobianas de la glándula uropigia (Czirják et al. 2013, Møller et al. 2009, 2010) y, los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con esto, ya que la gran variedad de sacáridos presentes en la glándula uropigia podrían estar asociados a esta función. Estos resultados se apoyan en observaciones realizadas en otros grupos de animales, ya que se encontró que las células mucosas de peces (Díaz et al. 2001), la epidermis de anfibios y diversas glándulas cutáneas de mamíferos producen glicoconjugados que actuarían como sustancias antimicrobianas interviniendo en la defensa del organismo (Meyer et al. 2007).

Para profundizar el estudio histoquímico de los carbohidratos presentes en las glándulas uropigias realizamos un estudio de lectin-histoquímica. Las lectinas son proteínas que poseen la capacidad de aglutinar células y de unirse a carbohidratos (Sharon & Lis 2004). Los estudios que comprenden lectin-histoquímica para la glándula uropigia son escasos; Montalti et al. (2001) describieron el perfil de lectinas en la glándula uropigia de la paloma doméstica *Columba livia*, la cual demostró positividad frente a las lectinas PNA, WGA, RCA-I y Con-A, confirmando la presencia de glicoconjugados en la secreción uropigial. El patrón de lectinas de las glándulas

uropigias de las distintas especies analizadas en este trabajo es bastante similar. Las lectinas que marcaron en todas las especies son: PNA, Con-A, UEA-I y RCA-I lo que supone como componentes comunes en las secreciones de las diferentes especies a la β -D-Galactosa, β -D-N-Acetilglucosamina y ácido N-Acetilneuramínico, α -L-Fucosa y β -Galactosa, respectivamente. Las aves terrestres como chimango y carancho mostraron una marcación para otras lectinas como LCA (α -D-Manosa) y SBA (α -D-N-Acetilgalactosamina/ β -D-Galactosamina) mientras que en la cotorra, la torcaza y la lechucita de las vizcacheras se encontró positividad frente a WGA (β -D-N-Acetilglucosamina/ácido N-Acetilneuramínico). En especies que habitan cuerpos de agua continentales, como flamenco y macá tobiano, el patrón de lectinas es muy similar; para la glándula uropigia del biguá se deberían repetir algunas lectinas para determinar con mayor precisión el perfil de reactividad frente a esta técnica ya que por problemas con el material no fue posible realizar la técnica para todas las lectinas disponibles. En las aves marinas solo fue posible realizar la técnica en skúas, y se encontró positividad para Con-A, SBA y WGA. Si bien hay algunas diferencias en la reactividad para algunas lectinas, podríamos asociar la presencia de gliconjugados con mecanismos protectores de la glándula uropigia frente a microorganismos. En otras glándulas sebáceas como aquellas presentes en la piel humana (Ookusa et al. 1983) y de ratas (Iwamoto et al. 1998) y la glándula prepucial de la cabra (Atoji 1989), se encontró una reacción positiva para diferentes lectinas, y los distintos autores proponen que los glicoconjugados presentes en estas glándulas podrían adherirse a la superficie de los microorganismos bloqueando los sitios de unión de las bacterias y su posterior penetración en la epidermis de los organismos.

Immunohistoquímica:

En la bibliografía se encuentran pocos trabajos relacionados con la realización de técnicas de inmunohistoquímica en la glándula uropigia (Liman et al. 2009). El antígeno celular de proliferación nuclear (PCNA) es una proteína esencial para la replicación y reparación del ADN (Jónsson & Hübscher 1998), también está involucrado en procesos de muerte celular ya que bajos niveles de esta proteína o su ausencia desencadenan la apoptosis en las células (Paunesku et al. 2001). Liman & Alan (2013) encontraron inmuno-positividad para PCNA en el estrato basal o germinativo de la glándula uropigia de la gallina; en esta tesis también pudimos encontrar inmuno-positividad en este estrato en aquellas glándulas en las que fue posible realizar esta

técnica como en chimango (Chiale et al. 2015), lechucita de las vizcacheras y carancho. En este trabajo también fue posible encontrar positividad en distintas glándulas uropigias para citoqueratina (CK), éste se utiliza para reconocer células epiteliales (Fernández et al. 2000, Fernández et al. 2014).

Secreción glandular:

La composición química de la secreción uropigial, más específicamente, los lípidos que la conforman, fueron estudiados de manera pormenorizada. Jacob (1976) presentó un estudio sobre el perfil de lípidos de la secreción uropigial analizando varios ordenes de aves, y más tarde, Jacob & Ziswiler (1982) también hacen una breve descripción de los compuestos que forman la secreción en diversos órdenes y familias. Inclusive, la secreción uropigial se utilizó como criterio taxonómico para relacionar distintos órdenes (Jacob 1976, Jacob & Hoerschelmann 1985), especies dentro de un mismo orden (Jacob 1978) y para separar familias como en el caso de Tytonidae y Strigidae (Jacob & Poltz 1974). Sin embargo, existen variaciones en los compuestos de la secreción uropigial que se relacionan con la edad de las aves (Kolattukudy 1974, Amo et al. 2012), con el sexo (Jacob et al. 1979, Amo et al. 2012), incluso con cambios estacionales (Soini et al. 2007, Amo 2012) y en época reproductiva (Reneerkens et al. 2002).

La secreción uropigial consta de una mezcla de monoésteres de ceras. Los compuesto predominantes en análisis de TLC realizados en la secreción de la glándula uropigia de varias especies de lechuzas (*Aegolius funereus*, *Asio otus*, *Bubo bubo*) son las ceras (Haahti 1964, Gamo 1971) lo que coincide con el análisis realizado mediante la misma técnica en la lechucita de las vizcacheras (*Athene cunicularia*). En otras especies de aves terrestres (*Gallus*, *Perdix*, *Phasianus*) los compuestos que predominan son metil ésteres de ácidos grasos (Haahti 1964).

El análisis de la secreción del flamenco americano (*Phoenicopterus ruber*) muestra que contiene ésteres de cera con 2,6- dimetil, 4,6- dimetil y 2,4,6-, 2,4,8- y 2,6,8- trimetil ácidos grasos (Jacob 1976, Jacob & Ziswiler 1982). En este trabajo se determinó utilizando TLC que posee ceras y triglicéridos como componentes más destacados pero también hidrocarburos y otros compuestos más polares sin determinar. Los ácidos grasos determinados en este trabajo que componen las ceras en el flamenco austral poseen di y tri metilaciones que son similares a los encontrados en el flamenco

americano. De todos modos, son necesarios estudios más detallados para poder determinar las diferencias entre los compuestos lipídicos de la secreción uropigial entre aves acuáticas y terrestres. Sin embargo, el hecho de que los compuestos predominantes en ambas especies estudiadas en el presente estudio y de aquellos provenientes de la bibliografía sean las ceras, implicaría una función similar de la secreción uropigial, independientemente del ambiente.

Numerosos estudios permiten postular la idea de que la glándula uropigia es un órgano destinado a cumplir diversas funciones y la variedad de compuestos glicosídicos se asociaría a una de ellas, la función antimicrobiana de la secreción uropigial. Podrían realizarse diferentes experiencias destinadas a probar esta función, sobre todo en aquellas especies que pueden tener un mayor contacto con bacterias como las carroñeras. A su vez, las ceras (predominantes en secreciones uropigiales) son compuestos que ayudan a evitar la desecación, minimizan daños mecánicos, brindan protección frente a microorganismos (Jacob & Hoppe 1997) y rayos ultravioletas e intervienen en la comunicación química (Eglinton & Hamilton 1967, Kolatukkudy 1976) y sus acciones se podrían ver complementadas con la presencia de glicoconjugados.

CONCLUSIONES

- Se acepta la hipótesis 1 corroborando que la glándula uropigia y su pincel de plumas están más desarrollados en aves acuáticas que en terrestres.
- También se acepta la hipótesis 2, la estructura histológica de esta glándula se asocia a los distintos ambientes; las aves acuáticas carecen de cámara primaria de almacenamiento (sólo es posible observar una pequeña cámara en especies con menor contacto con el agua), mientras que todas las aves terrestres analizadas presentan esta estructura.
- El tejido productor de secreción suele ser proporcionalmente más abundante en aves acuáticas, en las aves terrestres hay una tendencia a que los túbulos sean más cortos dando mayor espacio a la cámara primaria de almacenamiento.
- La secreción uropigial consta de una mezcla compleja de lípidos, en especial ceras, y compuestos glicosilados (glicoproteínas y glicolípidos). Las aves acuáticas (sobre todo las que habitan cuerpos de agua continentales) mostraron una mayor diversidad de residuos de carbohidratos que las aves terrestres,

aunque en este último grupo fue posible ver una gran variedad de estos compuestos en aquellas especies con hábitos carroñeros.

- Para terminar de corroborar la hipótesis 3 son necesarios estudios que profundicen los análisis de lípidos que se realizaron en este trabajo. Sin embargo, es posible asegurar que los lípidos predominantes en la secreción uropigial de aves terrestres y acuáticas son las ceras. En la especie de ave acuática analizada fue posible encontrar otros lípidos como los triglicéridos.

Capítulo IX
Referencias



- Amo, L., Avilés, J.M., Parejo, D., Peña, A., Rodríguez, J. & Tomás, G.** 2012. Sex recognition by odour and variation in the uropigial gland secretion in starlings. *Journal of Animal Ecology* 81 (3): 605-613.
- Amat, J.A., Rendón, M.A., Garrido-Fernández, J., Garrido, A., Rendón-Martós, M. & Pérez-Gálvez, A.** 2010. Greater flamingos *Phoenicopterus roseus* use uropigial secretions as make-up. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 65: 665-673.
- Atalgin, H. & Kürtül, İ.** 2008. Arterial vascularization of the uropygial glands (gl. Uropygialis) in the Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) and Silver Polish (*Gallus gallus domesticus*). *Journal of Veterinary Medicine: Anatomia, Histologia, Embryologia* 37: 177-180.
- Atoji, Y., Suzuki, Y. & Sugimura, M.** 1989. The preputial gland of the Japanese serow *Capricornis crispus*: ultrastructure and lectin-histochemistry. *Acta Anatomica* 134: 245-252.
- Audubon, J.J.** 1829. Notes on the birds of Washington (*Falco washingtoniana*) or Great American Sea Eagle. *Magazine of Natural History* 1: 115-120.
- Bancroft, J. & Stevens, A.** 1980. *Theory and practice of histological techniques*, 2nd. Edition, Churchill-Livingstone, New York. Pp. 187-188.
- Bandyopadhyay, A. & Bhattacharyya, S.P.** 1996. Influence of fowl uropygial gland and its secretory lipid components on the growth of skin surface bacteria of fowl. *Indian Journal of Experimental Biology* 34: 48-52.
- Bandyopadhyay, A. & Bhattacharyya, S.P.** 1999. Influence of fowl uropygial gland and its secretory components on the growth of skin surface fungi of fowl. *Indian Journal of Experimental Biology* 37: 48-52.
- Baptista, L.F., Trail, P.W. & Horblit, H.M.** 1997. Columbiformes. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 4. Lynx Edicions, Barcelona.
- Beddard, F.E.** 1898. The structure and classification of birds. Longmans, Green & Co., London.

- Bierregaard, R.O.** 1994. Chimango Caracara *Milvago chimango*. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 2. Lynx Edicions, Barcelona.
- Bo, N.A.** 1953. Observaciones sobre la glándula uropigia del biguá *Phalacrocorax brasilianus brasilianus* (Gmelin). *Ciencia e Investigación* 9 (11): 521-524.
- Bohnet, S., Rogers, L., Sasaki, G. & Kolattukudy, P.E.** 1991. Estradiol induces proliferation of peroxisome-like microbodies and the production of 3-hydroxy fatty acids, the female pheromones, in the uropigial gland of male and female mallards. *Journal of Biological Chemistry* 266 (15): 9795-9804.
- Burton, E.** 1822. Observations on the natural history and anatomy of the *Pelecanus Aquilus* of Linneus. *Transactions of the Linnaean Society of London* 13: 1-11.
- Carboneras, C.** 1992. Procellariiformes. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona.
- Chiale, M.C.** 2010. La glándula uropigia de aves de distintos ambientes (tesina de Licenciatura). Universidad Centro de Altos Estudios en Ciencias Exactas, Buenos Aires, Argentina.
- Chiale, M.C. & Montalti, D.** 2013. The relationship of the feather tuft of the uropygial gland and terrestrial/aquatic birds. *Revista Brasileira de Ornitologia* 21 (3): 162-167.
- Chiale, M.C., Fernández, P.E., Gimeno, E.J., Barbeito, C.G. & Montalti, D.** 2014. Morphology and histology of the uropygial gland in Antarctic birds: relationship with their contact with the aquatic environment? *Australian Journal of Zoology* 62: 157-165.
- Chiale, M.C., Montalti, D., Flamini, A., Fernández, P.E., Gimeno, E.J. & Barbeito, C.G.** 2015. Histological and histochemical study of the uropygial gland of chimango caracara (*Milvago chimango*, Vieillot 1816). *Biotechnic and Histochemistry* DOI: 10.3109/10520295.2015.1068953.
- Chowdhury, S.R. & Bhattacharyya, S.P.** 1989. Circannual variation in the alveolar histodynamics and secretory activity of the uropygial gland of the male red-vented bulbul, *Picnonotus cafer* (Linnaeus). *Pavo* 27: 5-13.

- Czirják, G.A., Pap, P.L., Vágási, C.I., Giraudeau, M., Muresan, C. & Mirleau, P.** 2013. Preen gland removal increases plumage bacterial load but not that of feather degrading bacteria. *Naturwissenschaften* 100: 145-151.
- del Hoyo, J.** 1992. Phoenicopteriformes. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona.
- Díaz, A.O., García, A.M., Devicenti, C.V. & Goldemberg, A.L.** 2001. Mucous cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and ultrastructure. *Anatomy, Histology and Embryology* 30: 135-139.
- Dorward, P.K.** 1970. Response patterns of cutaneous mechanoreceptors in the domestic duck. *Comparative Biochemistry and Physiology* 35: 729-735.
- Eglinton, G. & Hamilton, R.H.** 1967. Leaf epicuticular waxes. *Science* 156: 1322-1335.
- Elder, W.H.** 1954. The oil gland of birds. *Wilson Bulletin* 66: 6-31.
- Fawcett, D.W.** 1995. Tratado de Histología de Bloom-Fawcett. 12ª Edición. Interamericana-McGraw-Hill.
- Fernández, P.E., Barbeito, C.G., Portiansky, E.L. & Gimeno, E.J.** 2000. Intermediate filament expression and sugar moieties in normal canine placenta. *Histology and Histopathology* 15: 1-6.
- Fernández, P.E., Diessler, M.E., Pachame, A., Ortega, H.H., Gimeno, E.J., Portiansky, E.L. & Barbeito, C.G.** 2014. Intermediate filament proteins expression and carbohydrate moieties in trophoblast and decidual cells of mature cat placenta. *Reproduction in Domestic Animals* 49 (2) DOI:10.1111/rda.12265.
- Forshaw, J.M.** 2010. *Parrots of the World*. Princeton Field Guides. Princeton University Press.
- Furness, R.W.** 1992. Charadriiformes. Stercorariidae. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona.
- Galván, I. & Sanz, J.J.** 2006. Feather mite abundance increases with uropygial gland size and plumage yellowness in Great Tit *Parus major*. *Ibis* 148: 687-697.

- Galván, I., Barba, E., Piculo, R., Cantó, J.L., Cortés, V., Monrós, J.S., Atiénzar, F. & Proctor, H.** 2008. Feather mites and birds: an interaction mediated by uropygial gland size? *Journal of Evolutionary Biology* 21 (1): 133-144.
- Galván, I. & Møller A.P.** 2013. Odor transmission and olfaction: The tuft of the uropygial gland and olfactory ability in birds. *The Condor* 115 (4): 693-699.
- Gamo, M.** 1971. The distribution of diol waxes in preen glands of some birds. *International Journal of Biochemistry* 2 (11): 574-580.
- Garrod, A.H.** 1874. On some points on the anatomy of *Columbae*. *Proceedings of the Zoological Society of London*: 249-259.
- Giraudeau, M., Duval, C., Guillon, N., Bretagnolle, V., Gutierrez, C. & Heeb, P.** 2010. Effects of access to preen gland secretions on mallard plumage. *Naturwissenschaften* 97: 577-581.
- Gomot, L.** 1958. Contribution à l'étude de développement embryonnaire de la glande uropygienne chez le canard.
- Gottschaldt, K.M.** 1985. Structure and function of avian somatosensory receptors. En : *Form and Function in Birds*. King, A.S. & McLelland, J. (eds.), Academic Press, Londres, pp. 375-461.
- Graña Grilli, M. & Montalti, D.** 2012. Trophic interactions between brown and south polar skuas at Deception Island, Antarctica. *Polar Biology* 35: 299-304.
- Grassé, P.P.** 1950. Oiseuax. *Traite de zoologie* 15: 285-289.
- Hahti, E., Lagerspetz, K., Nikkari, T. & Fales, H.M.** 1964. Lipids of the uropygial gland of birds. *Comparative Biochemistry and Physiology* 12 (3) : 435-436.
- Harem, I.S., Kocak-Harem, M., Turan-Kozlu, T., Akaydin-Bozkurt, Y., Karadag-Sari, E. & Altunay, H.** 2010. Histologic structure of the gland of the osprey (*Pandion haliaetus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 41 : 148-151.
- Haribal, M., Dhondt, A.A., Rosane, D. & Rodriguez, E.** 2005. Preen gland secretions of passerines and their chemistry : different pathways to the same goals? *Chemoecology* 15 : 251-260.

- Haribal, M., Dhondt, A.A & Proctor, H.** 2006. Parallel seasonal variation in preen gland secretion and occurrence of feather mites. *Journal of Ornithology* 147: 36.
- Haribal, M., Dhondt, A.A. & Rodriguez, E.** 2009. Diversity in chemical compositions of preen gland secretions of tropical birds. *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 80-90.
- Hindwood, R.W.G.** 1933. The meaning of animal colour and adornment. London : Edward Arnold.
- Hirao, A., Aoyama, M. & Sugita, S.** 2009. The role of uropygial gland on sexual behaviour in domestic chicken *Gallus gallus domesticus*. *Behavioural Processes* 80: 115-120.
- Hoerschelmann, H. & Jacob, J.** 1996. Ein Beitrag zur Chemotaxonomie der Ruderenten (Aves, Anseriformes, Oxyurinae). *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut* 93: 237-240.
- Hou, H.C.** 1928a. Studies on the glandula uropygialis of birds. *American Journal of Physiology* 85 : 380.
- Iwamoto, S., Nakayama, H. & Doi, K.** 1998. Morphological and morphometrical study on the dorsal skin of Wistar and WBN/ILA-Ht rats in their development age. Evaluation of the proliferation and apoptotic processes. *Histology and Histopathology* 13: 981-988.
- Jacob, J. & Poltz, J.** 1974. Chemical composition of uropygial gland secretions of owls. *Journal of Lipid Research* 15 : 243-248.
- Jacob, J. & Grimmer, G.** 1975. Composition of the uropygial gland waxes in relation to the classification of some passerine birds. *Biochemistry and Systematic Ecology* 3 (4): 267-271.
- Jacob, J.** 1976a. Bird waxes. En: *Chemistry and biochemistry of natural waxes*. Kolattukudy, P.E. (ed.). Elsevier, Amsterdam. Pp 93-146.
- Jacob, J.** 1976b. Uropygial gland lipids of penguins. *Biochemical Systematics and Ecology* 4: 209-213.
- Jacob, J.** 1978. Hydrocarbon and multibranched ester waxes from the uropygial gland secretion of grebes (Podicipediformes). *Journal of Lipid Research* 19: 148-153.

- Jacob, J., Balthazart, J. & Schoffeniels, E.** 1979. Sex differences in the chemical composition of uropigial gland waxes in domestic ducks. *Biochemical Systematics and Ecology* 7 (2): 149-153.
- Jacob, J. & Ziswiler, V.** 1982. The uropygial gland. En: *Avian Biology*. Farner, D.S., King, J.R. & Parkes, K.C. (eds.), Vol. VI. New York: Academic Press.
- Jacob, J. & Hoerschelmann, H.** 1985. Similarities within the pattern of the uropygial gland secretion from tinamous, kiwis and galliform species. *Comparative Biochemistry and Physiology* 81 (4): 945-947.
- Jacob, J., Eigener, U. & Hoppe, U.** 1997. The structure of the preen gland waxes from Pelecaniform birds containing 3,7-dimethyloctan-1-ol – an active ingredient against dermatophytes. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung* 52: 114-123.
- Jacob, S., Immer, A., Leclair, S., Parthuisot, N., Ducamp, C., Espinasse, G. & Heeb, P.** 2014. Uropygial gland size and composition varies according to experimentally modified microbiome in great tits. *BMC Evolutionary Biology* 14: 134.
- Johnston, D.W.** 1988. A morphological atlas of the avian uropygial gland. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Zoology Series* Vol. 54, N° 5.
- Jónsson, Z.O. & Hübscher, U.** Proliferating cell nuclear antigen: more than a clamp for DNA polymerases. *BioEssays* 19 (11): 967-975.
- Juniper, T. & Parr, M.** 2010. *Parrots. A Guide of the parrots of the World*. Christopher Helm Publishers, London.
- Kamiya, S., Izumisawa, Y., Tsukushi, M., Amasaki, H. & Daigo, M.** 1986. Histochemical studies on Polysaccharides in the uropygial gland of ducks. *The Bulletin of Nippon Veterinary and Zootechnical College* 35: 1-7.
- Kennedy, R.J.** 1971. Preen gland weights. *Ibis* 113: 369-372.
- Kolattukudy, P.E. & Sawaya, W.N.** 1974. Age dependent structural changes in the diol esters of uropygial glands of chicken. *Lipids* 9 (4): 290-292.
- Kolattukudy, P.E.** 1981. Avian uropygial (preen) gland. *Methods in Enzimology* 72: 714-718.

- Kolattukudy, P.E., Bohnet, S. & Rogers, L.** 1985a. Disappearance of short chain fatty acids from the preen gland wax of male mallard ducks during eclipse. *Journal of Lipid Research* 26: 989-994.
- Kolattukudy, P.E., Rogers, L. & Flurkey, W.** 1985b. Suppression of thioesterase gene expression and the disappearance of short chain fatty acids in the preen gland of mallard duck during eclipse, the period following postnuptial molt. *Journal of Biological Chemistry* 260 (19): 10789-10793.
- Kolattukudy, P.E. & Rogers, L.** 1987. Biosynthesis of 3-hydroxy fatty acids, the pheromone components of female mallard ducks by cell-free preparations from the uropygial gland. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 252 (1): 121-129.
- Kolattukudy, P.E., Bohnet, S. & Rogers, L.** 1987. Diesters of 3-hydroxy fatty acids produced by the uropygial gland of female mallards uniquely during the mating season. *Journal of Lipid Research* 28: 582-588.
- Kossman, R.** 1871. Ueber talgdrusen der vogel. *Zeitschrift fur Wissenschaftliche Zoologie*: 568-599.
- Kozlu, T., Akaydin-Bozkurt, Y. & Ates, S.** 2011. A macroanatomical and histological study of the uropygial gland in the white stork (*Ciconia ciconia*). *International Journal of Morphology* 29 (3): 723-726.
- Law, J.E.** 1929. The function of the oil gland. *Condor* 31: 148-156.
- Leberman, R.C.** 1967. The influence of fat on bird weight. *EBBA News* 30: 181-184.
- Le Douarin, N.M.** 2012. Piecing together the vertebrate skull. *Development* 139: 4293-4296.
- Le Lièvre, C.S. & Le Douarin, N.M.** 1975. Mesenchymal derivatives of the neural crest: analysis of chimaeric quail and chick embryos. *Journal of Embriology and Experimental Morphology* 34 (1): 125-154.
- Lev, R. & Spicer, S.S.** 1964. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *Journal of Histochemistry and Citochemistry* 12. 309.
- Liman, N., Alan, E. & Beyaz, F.** 2009. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in chicken uropygial glands during post-hatching period. *Zoological Science* 26 (9): 600-607.

- Liman, N. & Alan, E.** 2013. The process of apoptosis in a holocrine gland as shown by the avian uropygial gland. *The Anatomical Record* 296 (3): 504-520.
- Limona, F. & del Hoyo, J.** 1992. Podicipediformes. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona.
- Lison, L.** 1953. *Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes*. Gauthier-Villars, Paris, 607 pp.
- Lucas, A.M. & Stettenheim, P.R.** 1972. Uropygial gland. En: *Avian Anatomy*, Parte II. United States Department of Agriculture, Agricultural Handbook 362: 613-626.
- Madsen, H.** 1941. Hvad gør Fuglenes Fjer-Dragt vandskyende? *Dansk Ornithologisk Forening Tidsskrift* 35: 49-59.
- Marks, J.S., Cannings, R.J. & Mikkola, H.** 1999. Strigiformes. Strigidae. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 5. Lynx Edicions, Barcelona.
- Martín-Vivaldi, M., Soler, J.J., Peralta-Sánchez, J.M., Arco, L., Martín-Platero, A.M., Martínez-Bueno, M., Ruíz-Rodríguez, M. & Valdivia, E.** 2014. Special structures of hoopoe eggshells enhance the adhesion of symbiont-carrying uropygial secretion that increase hatching success. *Journal of Animal Ecology*.
- Martinez, I.** 1992. Sphenisciformes. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona.
- McManus, J.F.A.** 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology* 23: 99-108.
- Menon, G.K., Aggarwal, S.K. & Lucas A.M.** 1981. Evidence for the holocrine nature of lipid secretion by avian epidermal cells: A histochemical and fine structural study of rictus and the uropygial gland. *Journal of Morphology* 167 (2): 185-199.
- Menon, G.K. & Menon, J.** 2000. Avian epidermal lipids: functional considerations and relationship to feathering. *American Zoologist* 40: 540-552.
- Meyer, W., Seegers, U., Schnaper, A., Neuhaus, H., Himstedt, W. & Toepfer-Petersen, E.** 2007. Possible antimicrobial defense by free sugars on the epidermal surface of aquatic vertebrates. *Aquatic Biology* 1 (2): 167-175.

- Møller, A.P., Czirják, G.A. & Heeb, P.** 2009. Feather microorganisms and uropigial antimicrobial defences in a colonial passerine bird. *Functional Ecology* 23: 1097-1102.
- Møller, A.P., Erritzøe, J. & Rózsa, L.** 2010. Ectoparasites, uropygial gland and hatching success in birds. *Oecologia* 163: 303-311.
- Montalti, D. & Salibián, A.** 2000. Uropygial gland size and avian habitat. *Ornitología Neotropical* 11: 297-306.
- Montalti, D., Gutierrez, A.M. & Salibián, A.** 1998. Técnica quirúrgica para la ablación de la glándula uropigia en la paloma casera *Columba livia*. *Revista Brasileira de Biología* 58: 193-196.
- Montalti, D., Quiroga, M.A., Massone, A.R., Idiart, J.R. & Salibián, A.** 2001. Histochemical and lectin-histochemical studies of the secretion from the uropygial gland of the rock dove *Columba livia* (Columbidae-Columbiformes). *Brazilian Journal of Morphological Science* 18 (1): 35-39.
- Montalti, D. & Salibián, A.** 2009. Physiological and biochemical aspects of the avian uropygial gland. *Brazilian Journal of Biology* 69 (2): 437-446.
- Montgomery, R.** 2006. Cosmetic and adventitious colors. En: Hill, G.E. & McGraw, K.J. (Eds.), *Bird Coloration*, Vol. 1. Harvard University Press, Cambridge. Pp 399-427.
- Mowry, R.W.** 1956. Alcian blue techniques for the histochemical study of acid carbohydrates. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 4: 407-408.
- Moyer, B.R., Rock, A.N. & Clayton, D.H.** 2003. Experimental test of the importance of preen oil in rock doves (*Columba livia*). *Auk* 120 (2): 490-496.
- Nitzsch, C.L.** 1840. *System der Pterylographie*. Burmeister Halle.
- Nitzsch, C.L.** 1867. *Nitzsch's Pterylography*. Traducido al inglés por Dallas, W.S. Sclater, P.L. (ed.). Ray Society, Londres.
- Ookusa, Y., Takana, K., Nagashima, M. & Hirano, H.** 1983. Distribution of glycoconjugates in normal human skin using biotinyl lectins and avidin-horseradish peroxidase. *Histochemistry* 79: 1-7.

- Olsen, K.M & Larsson, H.** 1997. A guide to the Skuas and Jaegers of the world. Pica Press. The Banks, Mountfield, Sussex.
- Orta, J.** 1992. En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona.
- Özcan, S., Aslan, K., Aksoy, G. & Kürtül, İ.** 2004. Arterial vascularization of the uropygial glands (gl. Uropygialis) in the Rock Partridge (*Alectoris graeca*) living in Turkey. *Journal of Veterinary Medicine: Anatomia, Histologia, Embryologia* 33 : 155-157.
- Paris, P.** 1912. Sur la présence des corpuscules de Herbst dans la glande uropygienne des Oiseaux.
- Paris, P.** 1913. Recherches sur la glande uropygienne des Oiseaux. *Archives de Zoologie Experimentale et Generale* 53: 139-276.
- Paunesku, T., Mittal, S., Protic, M., Orhyon, J., Korolev, S.V., Joachimiak, A. & Woloschak, G.E.** 2001. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): ringmaster of the genome. *International Journal of Radiation Biology* 77 (10): 1007-1021.
- Piault, R., Gasparini, J., Bize, P., Paulet, M., McGraw, K.J. & Roulin, A.** 2008. Experimental support for the makeup hypothesis in nestling tawny owls (*Strix aluco*). *Behavioural Ecology* 19: 703-709.
- Picasso, M.B.J., Mario, R. & Barbeito, C.G.** 2015. The skin structure of greater rhea (Rheidae, Palaeognathae). *Acta Zoologica* DOI: 10.1111/azo.12123.
- Piersma, T., Dekker, M. & Sinninghe-Damsté, J.S.** 1999. An avian equivalent for makeup? *Ecology Letters* 2: 201-203.
- Reneerkens, J., Piersma, T. & Sinninghe-Damsté, J.S.** 2002. Sandpipers (Scolopacidae) switch from monoesters to diesters preen waxes during courtship and incubation, but why? *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences* 269: 2135-2139.
- Reneerkens, J., Versteegh, M.A., Schneider, A.M., Piersma, T. & Burt Jr., E.H.** 2008. Seasonally changing preen wax composition: Red Knots' (*Calidris canutus*) flexible defense against feather-degrading bacteria. *The Auk* 125 (2): 285-290.

- Rutschke, E.** 1960. Untersuchungen über Wasserfestigkeit und Struktur des Gefieders von Schimmvögeln. *Zoologische Jahrbücher Systematik* 87: 441-506.
- Ruiz-Rodríguez, M., Valdivia, E. Soler, J.J., Martín-Vivaldi, M., Martín-Platero, A.M. & Martínez-Bueno, M.** 2009. Symbiotic bacteria living in the hoopoe's uropygial gland prevent feather degradation. *The Journal of Experimental Biology* 212: 3621-3626.
- Sawad, A.A.** 2006. Morphological and histological study of the uropygial gland in the moorhen (*G. gallinula c. chloropus*). *International Journal of Poultry Science* 50 : 938-941.
- Schumacher, S.** 1919. Der Bürzeldocht. *Anatomischer Anzeiger* 52: 291-301.
- Sick, H.** 1964. A proteção das aves contra umidade. Publicações Avulsas do Museu Nacional N°48. Universidad Nacional de Brasil.
- Soini, H.A., Schrock, S.E., Bruce, K.E., Wiesler, D., Ketterson, E.D. & Novotny, M.V.** 2007. Seasonal variation in volatile compound profiles of preen gland secretions of the dark-eyed junco (*Junco hyemalis*). *Journal of Chemical Ecology* 33 (1): 183-198.
- Sokal, F.J. & Rohlf, R.R.** 1995. *Biometry*, 3^o Edición. Freeman and Company. Nueva York.
- Stettenheim, P.R.** 2000. The integumentary morphology of modern birds – An overview. *American Zoologist* 40: 461-477.
- Surmacki, A. & Nowakowski, J.N.** 2007. Soil and preen waxes influence the expression of carotenoid-based plumage coloration. *Naturwissenschaften* 94: 829-835.
- Suzuki, T.** 1994. Ultrastructural studies on the uropygial glands of quail. *Japanese Poultry Science* 31: 38-44.
- Vincze, O., Vágási, C. I., Kovács, I., Galván, I., & Pap, P. L.** 2013. Sources of variation in uropygial gland size in European birds. *Biological Journal of the Linnean Society* 110: 543–563.
- Wagner, R.C. & Boord, R.L.** 1975. Cytological differentiation in the uropygial gland. *Journal of Morphology* 146 (3): 395-413.
- Warham, J.** 1990. 'The Petrels: Their Ecology and Breeding Systems.' Academic Press: London.

- Weitzel, G.** 1951. Beziehungen zwischen struktur und funktion beim Bürzeldrüsenfett. *Fette Seifen Anstrichm* 53: 667-671.
- Wetmore, A.** 1920. The function of powder downs in herons. *The Condor* 22 (5): 168-170.
- White, C.M., Olsen, P.D. & Kiff, L.F.** 1994. Falconiformes. Falconidae (Falcons and Caracaras). En: del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.). *Handbook of the Birds of the World*, Vol. 2. Lynx Edicions, Barcelona.
- Wood, C.A. & Fyfe, F.M.** 1943. The art of falconry, being the De Arte Venandi Cum Avibus of Frederick II of Hohenstaufen. California: Stanford University Press.
- Zhang, J.X., Wei, W., Zhang, J.H. & Yang, W.** 2010. Uropygial gland secreted alkanols contribute to olfactory sex signals in Budgerigars. *Chemical Senses* 35: 375-382.

Apéndice I

Detalle de la cantidad de individuos utilizados por especie para el análisis de MGR, plumas del pincel, técnicas histológicas y lectin e inmunohistoquímica (THLI) y análisis de lípidos.

Especie	MGR*	Plumas del pincel*	THLI	Lípidos
<i>P. papua</i>	9	6	2	-
<i>P. adeliae</i>	10	3	2	-
<i>O. oceanicus</i>	9	4	2	-
<i>F. tropica</i>	9	4	2	-
<i>S. antarcticus</i>	9	3	3	-
<i>lonnbergi</i>				
<i>S. macormiccki</i>	9	3	2	-
<i>P. chilensis</i>	7	3	3	6
<i>P. gallardoi</i>	4	4	3	-
<i>P. brasilianus</i>	5	2	3	-
<i>A. cunicularia</i>	9	-	3	4
<i>C. plancus</i>	5	3	2	-
<i>M. chimango</i>	9	10	3	-
<i>M. monachus</i>	9	7	3	-
<i>Z. auriculata</i>	8	-	3	-

* Se utilizaron datos que se poseen en la Sección Ornitología del Museo de La Plata + datos tomados de las glándulas utilizadas para THLI antes de fijarlas en formol.

Apéndice II

Reacciones histoquímicas para carbohidratos realizadas en las glándulas uropigias de las distintas especies de este trabajo.

Técnica	Referencias	Reacción química
PAS	Mc Manus (1948)	Glucógeno y/o GPs con dioles vecinos oxidables
PAS-D	Bancroft & Stevens (1980)	GPs con dioles vecinos oxidables
AA pH 0,5	Lev & Spicer (1964)	Glicoconjugados muy sulfatados
AA pH 1	Lev & Spicer (1964)	GPs con ésteres O-sulfatados
AA pH 2,5	Lev & Spicer (1964)	GPs con grupos carboxilos y/o con ésteres sulfatos
AA-PAS	Mowry (1956)	Glucógeno y/o GPs con dioles vecinos oxidables y GPs con grupos carboxilos y/o con ésteres sulfatos

PAS: ácido peryodico de Schiff, PAS-D: ácido peryodico de Schiff-Diastasa, AA: azul alcían.

Apéndice III

Lectinas utilizadas en la técnica de lectin-histoquímica separadas por grupos según su afinidad. Se incluyen sus acrónimos.

Lectina	Acrónimo	Afinidades*
Grupo I		
<i>Concanavalina ensiformis</i>	CON-A	β -D-Man; α -D-Glc
<i>Lens cunilaris</i>	LCA	α -D-Man
Grupo II		
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	β -D-GlcNAc; NeuNAc
<i>Succinil Triticum vulgare</i>	sWGA	β -(1-4)-D-GlcNAc
<i>Lycopersicon esculentum</i>	LEA	Oligómeros β 1,4GlcNAc
Grupo III		
<i>Dolichos biflorus</i>	DBA	α -D-GalNAc
<i>Glycine max</i>	SBA	α -D-GalNAc; β -D-GalNAc
<i>Ricinus communis</i>	RCA-I	B-Gal
<i>Arachis hypogaea</i>	PNA	β -D-Gal (β 1-3); D-GalNAc
<i>Bandeiraca simplicifolia-I</i>	BS-I	β -Gal
Grupo IV		
<i>Ulex europaeus</i>	UEA-I	L-Fuc

*Gal: Galactosa, GalNAc: N-Acetilgalactosamina, Glc: Glucosa, GlcNAc: N-Acetilglucosamina, Man: manosa, NeuNAc: ácido N-Acetilneuramínico (ácido siálico).