



Facultad de Veterinaria

Trabajo de  
Fin de Grado

Estudio histológico del canal  
alimentario (esófago y  
estómago) en aves silvestres

Ana M<sup>a</sup> Sabucedo Suárez

**Grado en Veterinaria**

Año 2020-2021

Modalidad del Trabajo: Experimental

## Licencia

Excepto donde se haga constar explícitamente, esta obra pertenece a Ana Sabucedo Suárez y está bajo una licencia de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”. Para ver una copia de esta licencia, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



## Resumen

En este trabajo se exponen los resultados obtenidos en el análisis histológico comparativo del esófago, proventrículo y ventrículo de la cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*), el alcatraz atlántico (*Morus bassanus*) y la corneja negra (*Corvus corone corone*), empleando para ello 3 tinciones histológicas diferentes: H&E, PAS-Azul alcian y AZAN.

A pesar de que el tracto gastrointestinal de las aves ha sido objeto de diversos estudios, no tenemos conocimiento hasta el momento información relativa a las tres especies mencionadas en este estudio. Este trabajo surge de la necesidad de completar el conocimiento relativo a la anatomía histológica de estas especies y de su posible relación con sus hábitos alimetarios.

Palabras clave: histología, canal alimentario, aves silvestres, esófago, estómago, proventrículo, ventrículo

## Resumo

Neste traballo expoñemos os resultado obtidos na análise histolóxica comparativa do esófago, proventrículo e ventrículo da cegoña branca (*Ciconia ciconia*), do alcatraz atlántico (*Morus bassanus*) e do corvo negro (*Corvus corone corone*), empleando para iso tres tincións diferentes: H&E, PAS-Azul alcian e AZAN.

A pesar de que o tracto gastrointestinal das aves estivo estudado en varias ocasións, non existe até o momento información relativa as tres especies obxecto deste estudo, o cal fai necesario a súa análise en profundidade co fin de completar o coñecemento relativo a súa anatomía e tratar de relacionalo cos seus hábitos alimentarios.

Palabras clave: histoloxía, canle alimentario, aves salvaxes, esófago, estómago, proventrículo, ventrículo

## **Abstract**

This work presents the results obtained in the comparative histological analysis of the esophagus, proventriculus and ventriculus of the White Stork (*Ciconia ciconia*), the Northern Gannet (*Morus bassanus*) and the Carrion Crow (*Corvus corone corone*), using 3 different histological stains: H&E, PAS-Alcian Blue and AZAN.

Even though the gastrointestinal track of birds has been the subject of several studies, up to now we have no information regarding the three species mentioned in this study. This work arises from the need to complete the knowledge about the histological anatomy of these species and its possible relationship with their eating habits.

Keywords: histology, alimentary canal, wild birds, esophagus, stomach, proventriculus, ventriculus

## Índice

<b>1. Introducción .....</b>	<b>8</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>13</b>
<b>3. Material y métodos .....</b>	<b>14</b>
3.1 Material biológico.....	14
3.2 Tinciones .....	14
<b>4. Resultados.....</b>	<b>17</b>
4.1 Esófago .....	17
4.2 Proventrículo.....	21
4.3 Ventriculo .....	24
<b>5. Discusión.....</b>	<b>27</b>
5.1 Esófago .....	27
5.2 Proventrículo.....	28
5.3 Ventriculo .....	30
<b>6. Conclusiones .....</b>	<b>31</b>
<b>7. Bibliografía .....</b>	<b>32</b>

## Índice de abreviaturas

<b>Abreviaturas</b>	<b>Significado</b>
H&E	Hematoxilina-Eosina
PAS	Ácido Peryódico de Shiff
m	Metro
kg	Kilogramo

## 1. Introducción

Las dietas de las aves son muy variadas, esto da como resultado una amplia variedad en la estructura anatómica del tracto digestivo de diferentes especies (North et al., 2016). Se ha descrito en varias ocasiones (Sibly, 1981) como esta morfología cambia en función de la dieta. Klem et al. (1982) describen que las aves con dietas altas en fibra tienden a tener un proventrículo más amplio, mientras que en las omnívoras, insectívoras y granívoras tiende a ser más pequeño; y en las piscívoras se encuentra un tamaño intermedio (Ogunkoya and Cook, 2009).

Por lo tanto, es de suponer que, si la morfología digestiva presenta tanta variabilidad, la histología debería acompañarla. Dicho de otra manera, podría resultar de sumo interés observar las posibles diferencias y similitudes histológicas que puedan tener el esófago, proventrículo y ventrículo de estas aves e intentar relacionarlo con sus costumbres alimenticias. Para ello empezaremos por hacer una breve introducción de su dieta, distribución y comportamiento reproductivo de las aves objeto de este estudio.

La distribución, alimentación y hábitos migratorios de la cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*) (Fig.1), han sido estudiados en profundidad debido a su estrecha relación con el hombre. Se encuentra ampliamente distribuida por el centro y sureste de Europa, la península ibérica y el noroeste y sur de África (Juberías et al., 2016). Es una especie monógama (Del Hoyo et al., 1992), donde cada pareja utiliza el mismo nido que construye año tras año pudiendo llegar a medir 2 m de ancho, 1'5 m de alto y 300 kg de peso (García, 1997). Además, suelen poner de 1 a 5 huevos en cada puesta entre los meses de marzo y abril. La eclosión ocurre alrededor de los 30 días y para el mes de junio los pollos abandonan el nido (Juberías et al., 2016). Su alimentación es variada pero principalmente carnívora, incluyendo cangrejos rojos, roedores, ranas, serpientes y lagartos, pero también insectos, huevos de otras aves e incluso restos de comida humana (Eljarrat et al., 2015).



**Fig.1.** Ejemplar de cigüeña blanca.  
<https://pixabay.com/es/photos/cig%C3%BCe%C3%B1a-ave-nido-de-piernas-largas-2308235/>

El alcatraz atlántico (*Morus bassanus*) (Fig.2) está distribuido mayoritariamente por el Atlántico norte y el Mediterráneo. Nidifica en verano en regiones subpolares, formando colonias de más de 20 mil parejas. Ponen un solo huevo que incuban de 42 a 46 días y alimentan a sus crías entre 11 y 12 semanas más. Una vez dejan el nido, se desplazan hacia el sur donde pasan dos o tres años antes de volver a las colonias de cría (Fundación CRAM, 2019). Es un ave carnívora, cuya alimentación está basada en un amplio abanico de peces entre los cuales se puede encontrar la caballa, el arenque, la sardina, la anchoa o el espadín, entre otros (Hamer et al., 2000).



**Fig.2.** Ejemplar de alcatraz atlántico. Fotografía de Andreas Trepte. <https://www.avi-fauna.info/>

La corneja negra (*Corvus corone corone*) (Fig.3) pertenece a una subespecie que habita en Europa occidental; desde Gran Bretaña al norte de Italia pasando por Francia, Suiza, la península ibérica, el sur de Alemania y Dinamarca. No migra largas distancias, sino que permanece cerca de los territorios de cría todo el año. Se cree que es una especie principalmente monógama con alguna excepción en poblaciones cooperativas. La puesta se produce a mediados de marzo y se compone de entre 4 y 6 huevos. Únicamente la hembra es la encargada de incubar los huevos durante 19-20 días. Su dieta es omnívora, alimentándose mayoritariamente de invertebrados y cereales, aunque también pequeños mamíferos, reptiles, ranas, peces, frutos, semillas e incluso raíces (Bolopo et al., 2015).



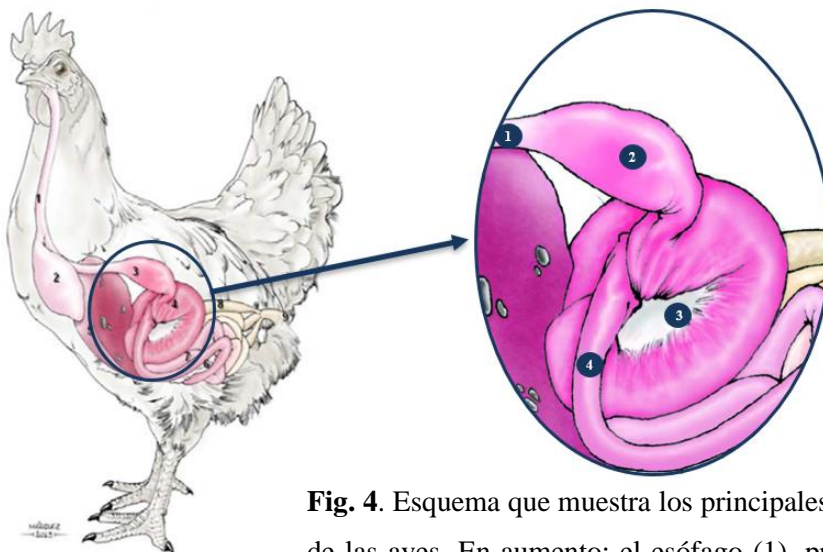
**Fig.3.** Ejemplar de corneja negra. <https://www.flickr.com/photos/decadiz/857491416>

Una vez sentadas las bases en relación a sus hábitos, es importante también entender la estructura histológica básica general del tracto digestivo de las aves con el objetivo de entender más fácilmente los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En cuanto al estudio de la anatomía del esófago, éste suele presentar una dilatación cuya función es reservar alimentos sin digerir, el buche. La forma del buche varía en función de la especie, tiene forma de S en las psitácidas, una doble bolsa en la paloma, en aves rapaces y granívoras una única bolsa y en acuáticas, en cambio, una simple dilatación. El diámetro del esófago es mayor en aves rapaces y piscívoras y menor en las granívoras e insectívoras (Barbeito et al., 2014).

Centrándonos en la histología de este tramo, el esófago de las aves está formado por cuatro capas: mucosa, submucosa, muscular y adventicia o serosa. La mucosa a su vez presenta epitelio, lámina propia y muscular de la mucosa. El epitelio suele ser plano estratificado no queratinizado muy grueso. En la lámina propia, se encuentran glándulas mucosas que pueden ser tubulares simples (en aves carnívoras) o muy ramificadas (Barbeito et al., 2014). Debajo de esta, se encuentra una muscular de la mucosa considerablemente gruesa compuesta por una o dos capas de músculo liso orientación variable. La siguiente capa es la submucosa, que aparece poco desarrollada. La muscular está compuesta por dos capas de músculo liso, un detalle importante teniendo en cuenta que en mamíferos contiene fibras musculares esqueléticas y lisas dependiendo de la especie (Claver, 2014). Y por último la adventicia, que está muy vascularizada e inervada y contiene fibras elásticas y colágenas (Barbeito et al., 2014).

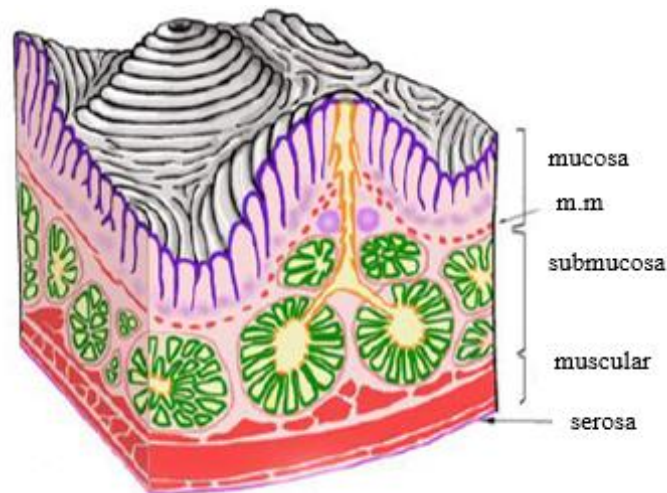
El esófago desemboca en el estómago, que en el caso de las aves se divide en dos porciones distinguibles: proventrículo y ventrículo o molleja (Fig.4).



**Fig. 4.** Esquema que muestra los principales órganos del aparato digestivo de las aves. En aumento: el esófago (1), proventrículo (2), molleja (3) y duodeno (4) (Barbeito et al., 2014).

El proventrículo o estómago glandular (Fig.5), se correspondería al estómago en la mayoría de los mamíferos. La pared del proventrículo también está formada por las cuatro túnicas clásicas: mucosa, submucosa, muscular y serosa.

En la mucosa de este órgano se aprecian macroscópicamente unas elevaciones con aspecto de volcán donde se abren los conductos primarios de las glándulas y descargan hacia la luz. Estas elevaciones o papilas contienen pliegues circulares que delimitan surcos. El epitelio que compone estos pliegues es cilíndrico simple y se va haciendo cúbico en los surcos. Por debajo de este epitelio, la lamina propia cuenta con una gran infiltración de tejido linfoide y la muscular de la mucosa presenta dos capas, una externa de orientación longitudinal y otra interna circular, aunque algunos autores señalan que es una única capa de fibras musculares (Barbeito et al., 2014).

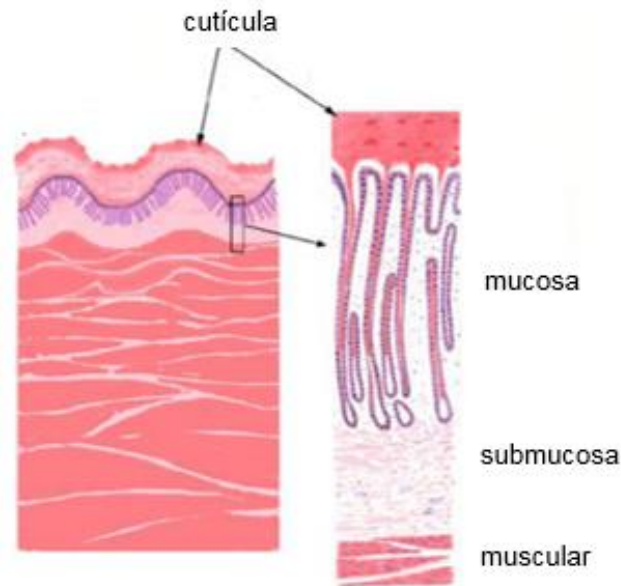


**Fig. 5.** Esquema que muestra la disposición de las distintas capas de la pared del proventrículo. m.m. Muscular de la mucosa. (Claver, 2014).

A diferencia del esófago, las glándulas están presentes en la submucosa y no en la mucosa. Esta capa es, por lo tanto, la más gruesa. Estas glándulas son capaces de segregar mucus, enzimas y ácido clorhídrico. En el caso de aves carnívoras, el ácido clorhídrico es muy importante para una correcta digestión de la carne y los huesos ingeridos (Cano, 2010). Son tubulares compuestas formando conductos terciarios y secundarios que desembocan en primarios. Estos conductos primarios atraviesan la mucosa y descargan directamente a la luz. En cuanto a la muscular, se observan tres capas: una longitudinal interna, una circular media y otra longitudinal externa (Claver, 2014). La serosa está formada por tejido conectivo laxo recubierto por mesotelio.

Para finalizar, la molleja o estómago muscular (Fig.6), está compuesto por una mucosa que secreta una sustancia queratinizada, la “cutícula” o “koilina”. Ésta protege a la mucosa de posibles daños químicos y junto con la ingesta de arena y piedras, favorece el triturado del alimento (también la protege de enzimas proteolíticas y ácidas). Al igual que los anteriores, su pared presenta las cuatro capas: mucosa, submucosa, muscular y serosa.

En la mucosa, el epitelio es cúbico a cilíndrico simple y, en la lámina propia, casi todo el espesor está ocupado por glándulas tubulares simples o ramificadas. Estas glándulas segregan la cutícula o koilina, que aparece particularmente engrosada en las aves carnívoras. No hay muscular de la mucosa en la mayoría de especies, pero sí se ha descrito en el cuervo y el avestruz (Barbeito et al., 2014). La siguiente capa es la submucosa, que está constituida por tejido conectivo denso, con abundantes fibras elásticas, a diferencia de lo que ocurría en el ventrículo, no se observa infiltración linfática (Claver, 2014). Su pared muscular aparece muy engrosada, siendo el grosor mayor en granívoras que en carnívoras (Cano, 2010). Sus fibras musculares lisas se disponen en dos capas: una circular externa y otra oblicua interna. Y por último está presente una túnica serosa, que es fina, compuesta por tejido conjuntivo laxo y cubierta por mesotelio.



**Fig. 6.** Esquema que la disposición de las distintas capas de la pared del ventrículo (Claver, 2014).

## 2. Objetivos

Los principales objetivos que se pretenden abarcar en este trabajo son los siguientes:

- Estudiar la histología de estas partes del canal alimentario (esófago, proventrículo y ventrículo) de las tres especies objeto de este trabajo.
- Establecer las diferencias histológicas de estos tramos anatómicos entre las tres aves.
- Si es posible, establecer una relación de la estructura con los hábitos alimentarios propios de estas aves.

### 3. Material y métodos

#### 3.1 Material biológico

Las muestras utilizadas en este estudio procedían de aves que habían sido remitidas al Hospital Clínico veterinario Rof Codina desde el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de *O Veral* en Lugo.

Cuando no fue posible la recuperación de estas aves, fueron sacrificadas, realizándose una necropsia sistematizada de las mismas, se tomaron las muestras de los distintos órganos, incluyendo los diferentes tramos del aparato digestivo y fueron fijadas en formaldehído tamponado al 10% durante un mínimo de 24 horas. Posteriormente se introdujeron en el inductor tisular (PSI D 6947 LAUDENBACH). Finalizado el proceso de inclusión, se procedió a realizar los bloques de parafina en una estación de parafina (MEDITE TISSUE BLOCK CENTER PAG 10).

Las secciones de 4  $\mu$ m se obtuvieron mediante un microtomo manual (REICHERT JUNG 2030).

Por último, los cortes fueron teñidos con las tinciones: Hematoxilina-Eosina (H&E), Azan (Hasumi) y PAS-Azul alcian.

#### 3.2 Tinciones

La H&E es la tinción histológica de rutina por excelencia. Combina dos colorantes que nos permiten obtener una visión general del tejido.

##### Resultados:

- Colágeno → rosa pálido
- Músculo → rosa fuerte
- Queratina → rojo intenso
- Citoplasma → rosado
- Núcleos → azul oscuro o púrpura
- Eritrocitos → color cereza

Protocolo
2 pases de xileno 10 min cada uno
3 pases de 5 min cada uno por alcoholes de concentración decreciente (100°, 90° y 70°)
Lavado en agua corriente 5 min
Hematoxilina 5 min
Lavado en agua corriente 5 min
Eosina 3 min
Lavado en agua corriente 5 min
Deshidratación seriada en alcoholes crecientes (70°, 90°, 100° y 100°)
Xileno 5 min
Xileno hasta montaje

El AZAN (Hasumi) es un método complejo de histología general que permite una clara diferenciación de tejidos, facilitando su estudio. De modo resumido, los núcleos, los eritrocitos, la fibrina, el fibrinoide y el citoplasma acidófilo se tiñen con la solución de Azocarmín G. Y, por otro lado, con el Azul de Anilina o el Orange G se tiñen las fibras de colágeno y el citoplasma basófilo.

<b>Protocolo</b>	
1.Desparafinar e hidratar en alcoholes decrecientes	9.Lavar 5 veces en solución Acético-Etanol - Alcohol 96%: 200 ml - Ácido acético glacial: 2 ml
2.Solución mordiente 10 min - Dicromato potásico al 10%: 100 ml - Ácido tricloroacético al 10%: 100 ml	10.Lavado en agua corriente 2 min
3.Lavado en agua destilada 5 min	11. Solución Ácido Fosfotúngstico al 5% 1,5 h
4.Solución Orange G 15 min - Orange G: 1,5 g - Agua destilada: 200 ml - Ácido acético glacial: 4 gotas	12. Lavado en agua corriente 2 min
5.Lavado en agua destilada 5 min	13.Solución de Azul de Anilina (azul de metileno) 15 min - Azul de anilina/metileno: 0,5 g - Agua destilada: 200 ml - Ácido acético glacial: 8 ml
6.Solución Azocarmín G 10 min - Azocarmín G: 0,4 g - Agua destilada: 200 ml - Ácido acético glacial: 2 ml	14.Diferenciar en Etanol 100% con agitación suave
7.Lavado en agua corriente 5 min	15.Dos baños en Alcohol 100% 3 y 5 min
8.Diferenciación en Alcohol-Anilina - Anilina: 0,2 ml - Alcohol 90%: 200 ml	16.Baños en xileno y montaje

#### **Resultados:**

- Fibras elásticas → gris/purpura
- Fibras de colágeno → azul
- Eritrocitos → amarillo
- Músculo liso → rojo suave/rosado
- Depósitos de fibrina maduros → rojo intenso
- Depósitos de fibrina viejos → azul suave
- Núcleos celulares → rojos
- Matriz cartilaginosa → azul

El PAS-Azul alcian es la técnica idónea para conseguir teñir la gama completa de polisacáridos en tejidos, tanto de mucopolisacáridos como de glucógeno. Además, también es una tinción adecuada para cartílago y membranas basales.

<b>Protocolo</b>
Desparafinar e hidratar
Solución Azul Alcian 30 min
Lavar en agua destilada
Acido periódico 1% 5 min
Lavar en agua destilada
Reactivo de Schiff 30 min
Lavar
Hematoxilina 1 min
Lavar, deshidratar, aclarar y montar

**Resultados:**

- Glúcidos: rosa intenso a fucsia
- Mucopolisacáridos ácidos: azul

Una vez montadas todas las muestras se observaron y analizaron a través de un microscopio óptico (NIKON YS100) y un sistema de captura de imágenes con un fotomicroscopio (OLYMPUS AX 70) con cámara incorporada (OLYMPUS DP74) y el programa informático (CELL SENS ENTRY).

Se obtuvo una batería de 45 muestras en total.

## 4. Resultados

Los resultados de los cortes histológicos mostraron que la pared del esófago, proventrículo y ventrículo estaba formada por cuatro capas: mucosa, submucosa, muscular y serosa en todas las especies de estudio.

### 4.1 Esófago

En las tres especies, la mucosa estaba cubierta por un epitelio plano estratificado no queratinizado. (**Fig. 7F y Fig. 9F**).

La lámina propia presenta glándulas tubulares simples que atraviesan el epitelio y desembocaban directamente a la luz (**Fig. 7B, Fig. 8B, Fig. 9B**). Con el PAS-Azul alcian el contenido de estas glándulas aparece teñido de azul indicando la presencia de mucopolisacáridos ácidos (**Fig. 7D, Fig. 8D y Fig. 9D**). Estas glándulas eran menos abundantes, pero de mayor tamaño, en la corneja negra que en las otras dos especies (**Fig. 9B y 9F**).

En cuanto a la muscular de la mucosa, se observa como una única capa de fibras musculares lisas. Está presente en el alcatraz, aunque poco desarrollada (**Fig. 7C**). En la corneja y en la cigüeña, sin embargo, no se aprecia esta capa, pudiendo estar ausente.

La submucosa es una capa delgada de tejido conectivo vascularizado muy parecido en todas las aves. (**Fig. 7A, 7C y 7E, Fig. 8A, 8C y 8E, Fig. 9A, 9C y 9E**).

La muscular consta de dos capas de fibras musculares lisas en las tres especies. En la cigüeña y el alcatraz la capa interna es de disposición longitudinal y la externa circular, siendo en el alcatraz más fina la capa interna (**Fig. 7A, 7C y 7E, Fig. 8A a 8F**). Por el contrario, en la corneja se disponen de manera contraria, la capa interna es circular y la externa es longitudinal (**Fig. 9A y 9E**). Tanto con el PAS-Azul alcian como con el AZAN, se aprecian muy bien los límites entre las distintas capas y su disposición (**Fig. 7C y 7E, Fig. 8D y 8F, Fig. 9A y 9F**).

Por último, la túnica adventicia está formada por tejido conectivo muy vascularizado e innervado, con fibras elásticas y colágenas, similar en las tres aves. Esta capa es sustituida por una serosa cuando el esófago entra en la cavidad abdominal.

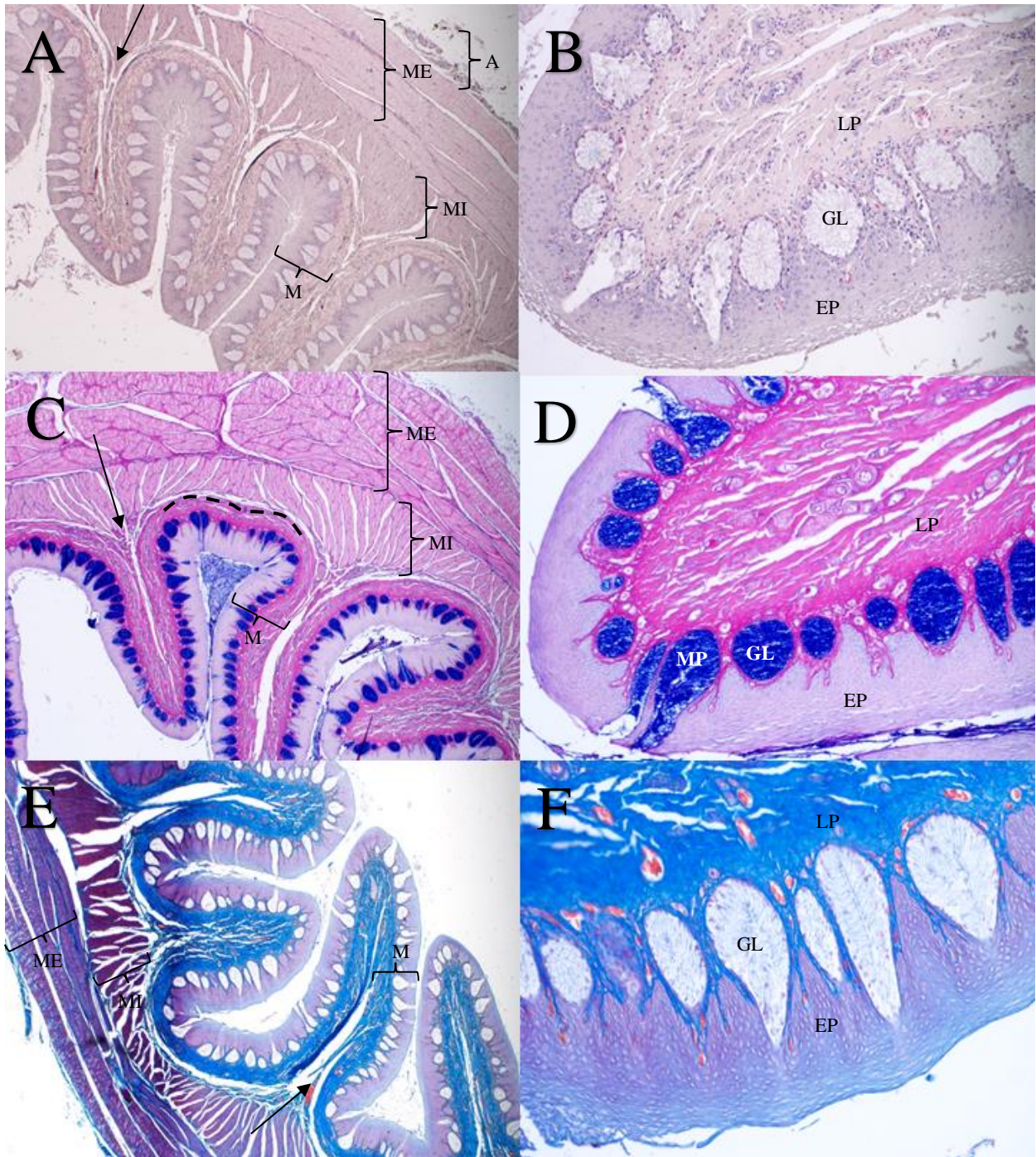


Fig.7. Cortes histológicos de esófago de cigüeña. M. Mucosa; Muscular de la mucosa (Línea discontinua); Submucosa (flecha); ME. Muscular externa; MI. Muscular interna; A. Adventicia; EP. Epitelio; GL. Glándulas tubulares simples; LP. Lámina propia; MP. Mucopolisacáridos ácidos. H&E (A y B), PAS-Azul alcian (C y D) y AZAN (E y F); a 4X (A, C, E) y a 20X (B, D, F). Elaboración propia.

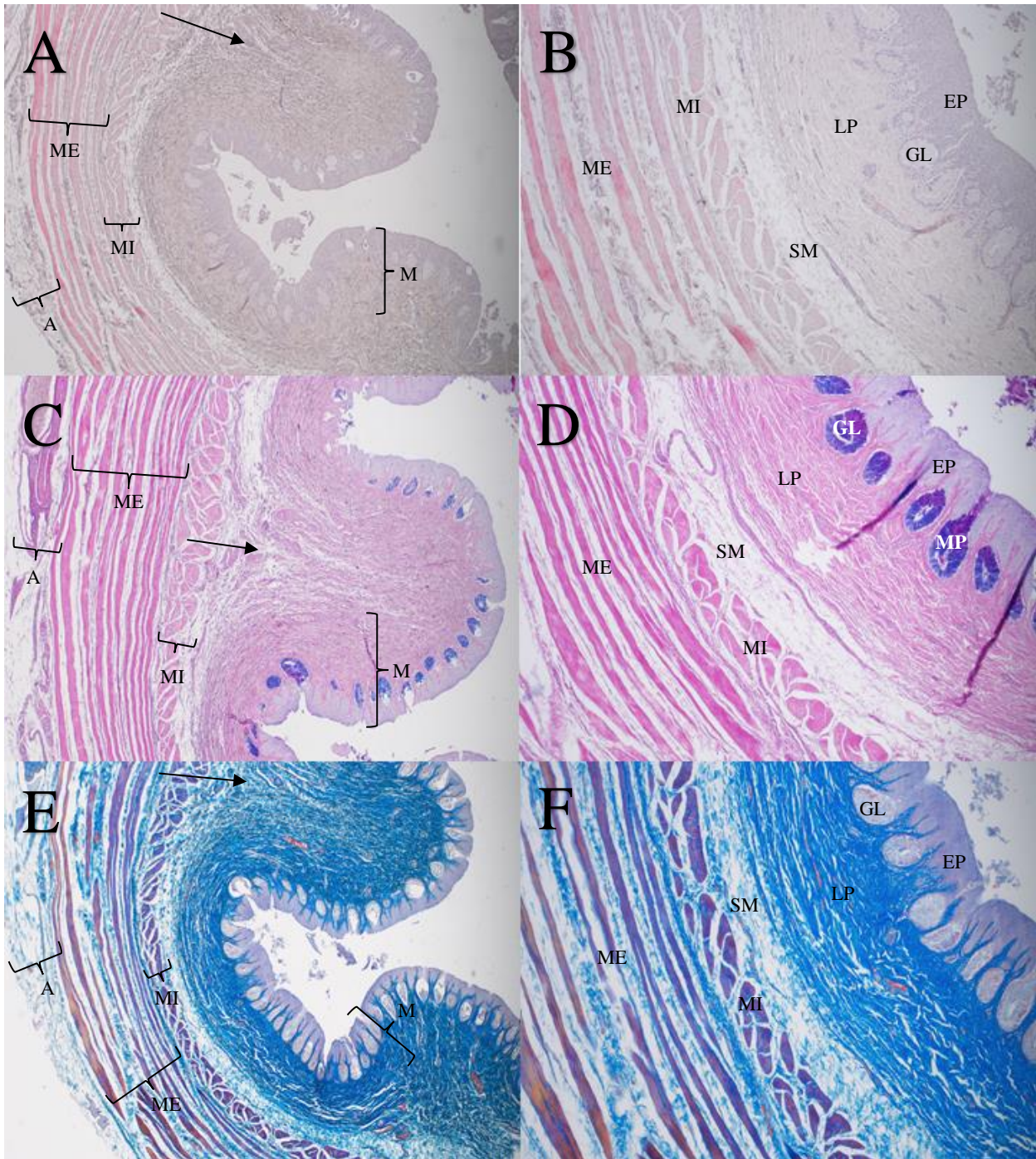


Fig.8. Cortes histológicos de esófago de alcatraz. M. Mucosa; Submucosa (flecha); SM. Submucosa; ME. Muscular externa; MI. Muscular interna; A. Adventicia; EP. Epitelio; GL. Glándulas tubulares simples; LP. Lámina Propia; MP. Mucopolisacáridos ácidos. H&E (A y B), PAS-Azul alcian (C y D) y AZAN (E y F); a 4X (A, C, E) y a 20X (B, D, F). Elaboración propia.

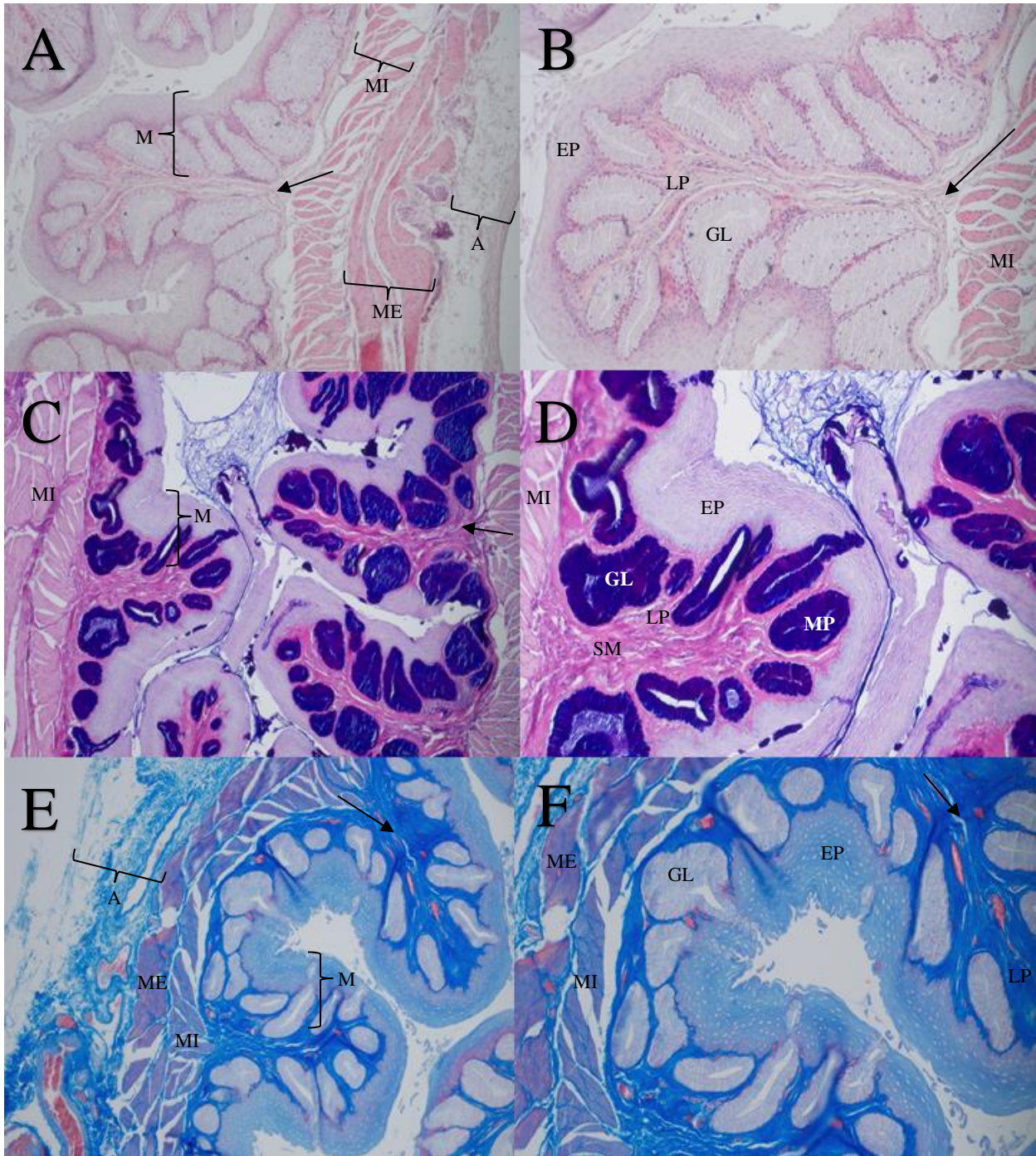


Fig.9. Cortes histológicos de esófago de corneja. M. Mucosa; Submucosa (flecha); SM. Submucosa; ME. Muscular externa; MI. Muscular interna; A. Adventicia; EP. Epitelio; GL. Glándulas tubulares simples; LP. Lámina propia, MP. Mucopolisacáridos ácidos. H&E (A y B), PAS-Azul alcian (C y D) y AZAN (E y F); a 10X (A, C, E) y a 20X (B, D, F). Elaboración propia.

## 4.2 Proventrículo

En la mucosa del proventrículo el epitelio cambia de cilíndrico simple a cúbico. En esta capa destaca la ausencia de las glándulas que atraviesan el epitelio en el esófago (**Fig. 10B**).

La muscular de la mucosa se observa poco desarrollada en las tres aves, siendo casi imperceptible en la cigüeña (**Fig. 11C y Fig. 12C**).

En el caso del proventrículo, es la submucosa la que contiene las glándulas formando la capa más gruesa y ocupando gran parte de la pared del órgano (**Fig. 11A a 11C, Fig. 12B y 12C**). Cada lóbulo glandular está compuesto por glándulas tubulares compuestas que descargan directamente a la luz atravesando la mucosa en su totalidad. Éstas presentan un epitelio cilíndrico simple, recubierto por células musculares lisas y tejido conectivo rico en vasos sanguíneos (**Fig. 10A y 10C**). En el espesor de las glándulas se puede apreciar la presencia de conductos terciarios, secundarios y por último primarios que desembocan directamente a la luz (**Fig. 10E y 10D**). El contenido que se vierte a estos conductos primarios aparece teñido de azul en la tinción PAS-Azul alcian indicando que son mucopolisacáridos ácidos (de forma similar a lo que ocurría en la mucosa del esófago) (**Fig. 10E**). Esta resulta ser muy parecida en las tres especies estudiadas.

La capa muscular difiere mucho de unas especies a otras. En la cigüeña está compuesta por 3 capas de fibras musculares lisas: una capa interna circular, una media longitudinal y otra externa circular (**Fig. 10A**). En el alcatraz y la corneja, sin embargo, solo presenta 2 capas. En el alcatraz la capa interna es longitudinal y la externa circular (**Fig. 11A a 11C**), mientras que en la corneja la interna es circular y la externa longitudinal (**Fig. 12A a 12C**). Esto hace que la capa muscular en estas dos últimas aves sea más fina en comparación con la cigüeña.

La serosa está formada por tejido conectivo rico en vasos sanguíneos y nervios recubiertos por mesotelio (**Fig. 10A**).

Cabe mencionar la presencia de nematodos del género *Capilaria spp.* en la luz del proventrículo de la corneja. Se trata de parásitos gastrointestinales cuya presencia es muy habitual, tanto en aves domésticas como en silvestres (**Fig. 12D**).

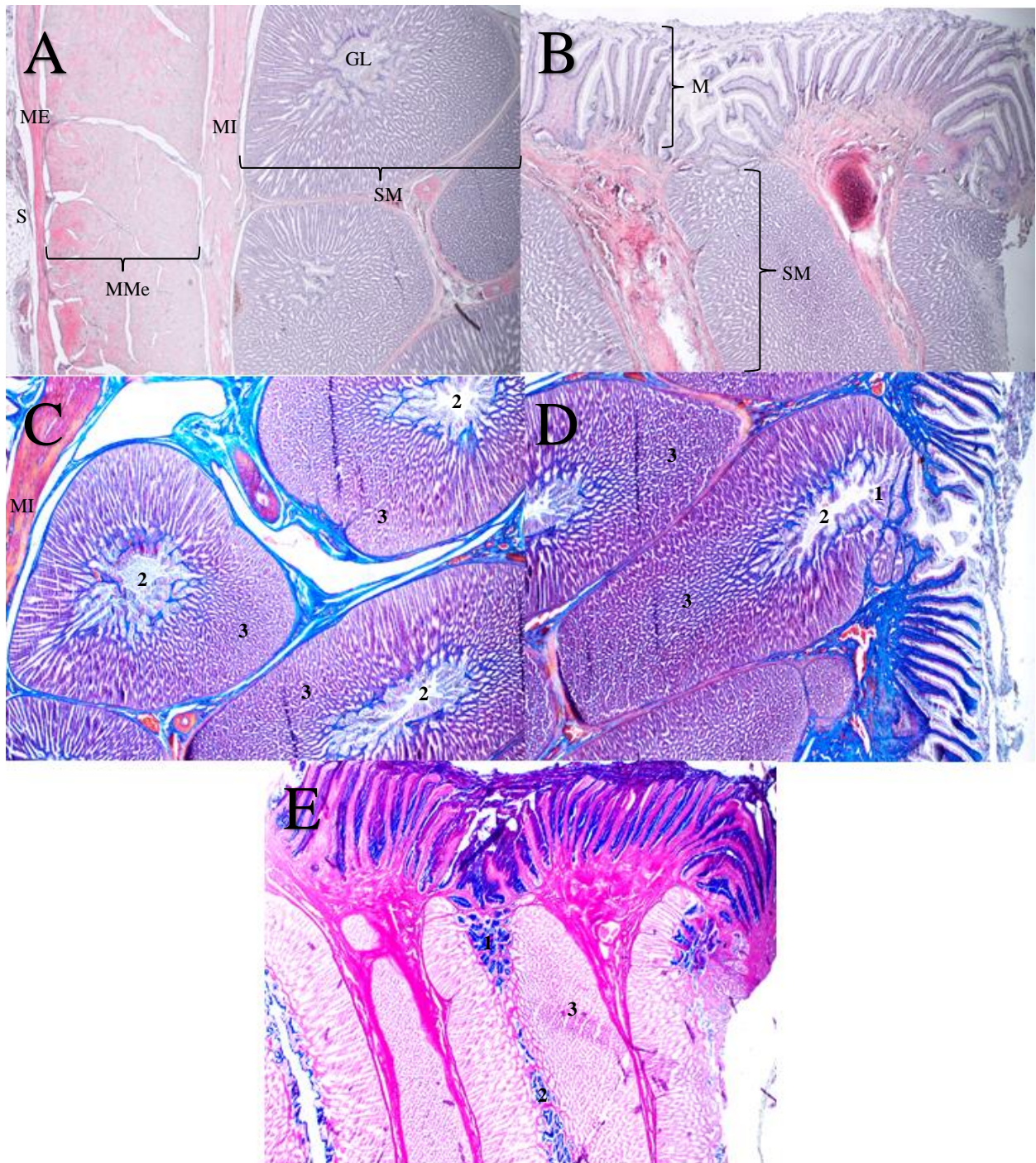


Fig.10. Cortes histológicos de proventrículo de cigüeña. M. Mucosa; SM. Submucosa; GL. Glándula; ME. Muscular externa; MMe. Muscular media; MI. Muscular interna; S. Serosa; Conducto primario (1); Conducto secundario (2); Conductos terciarios (3). H&E (A y B), AZAN (C y D) y PAS-Azul alcian (E); 4X. Elaboración propia.

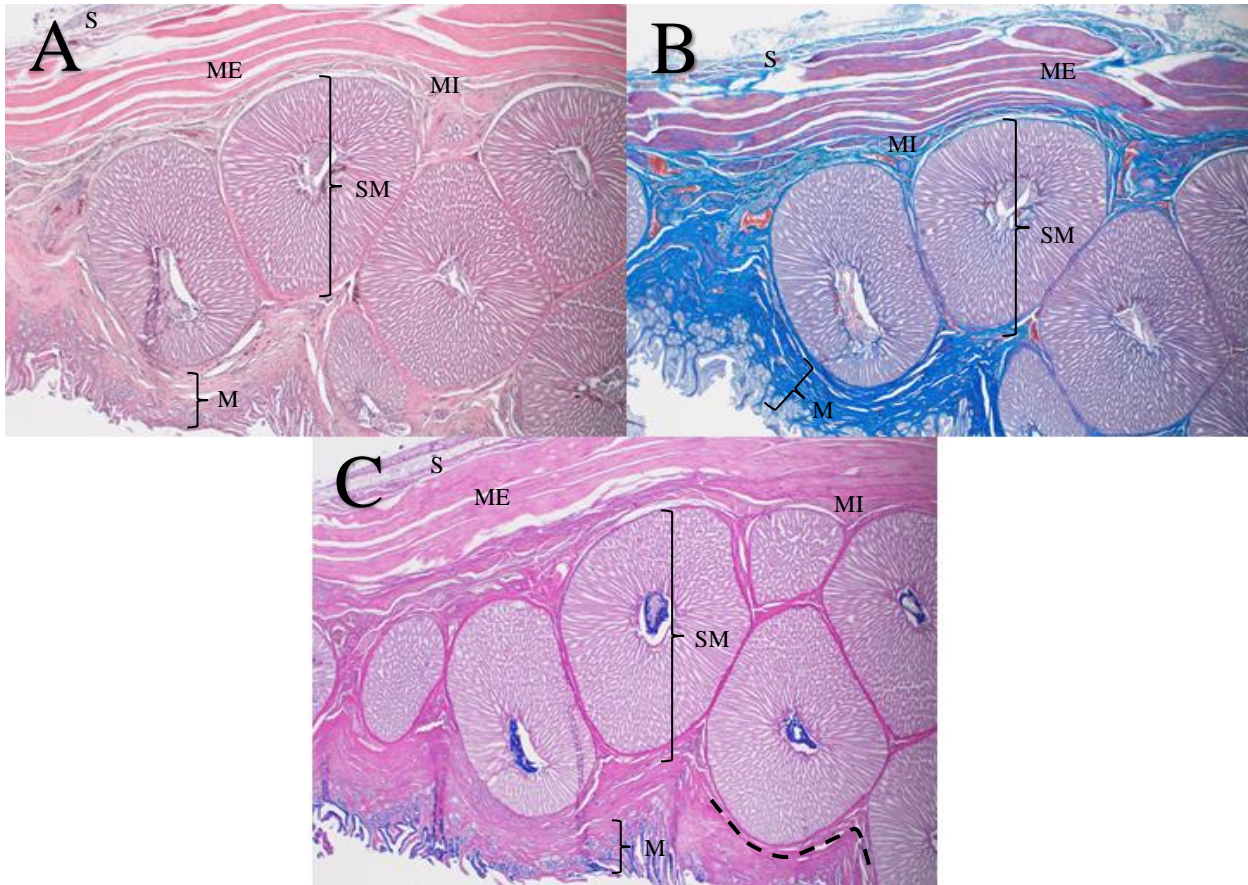


Fig.11. Cortes histológicos de proventrículo de alcazraz. M. Mucosa; Muscular de la mucosa (línea discontinua); SM. Submucosa; ME. Muscular externa; MI. Muscular interna; S. Serosa. H&E (A), AZAN (B) y PAS-Azul alcian (C); 4X. Elaboración propia.

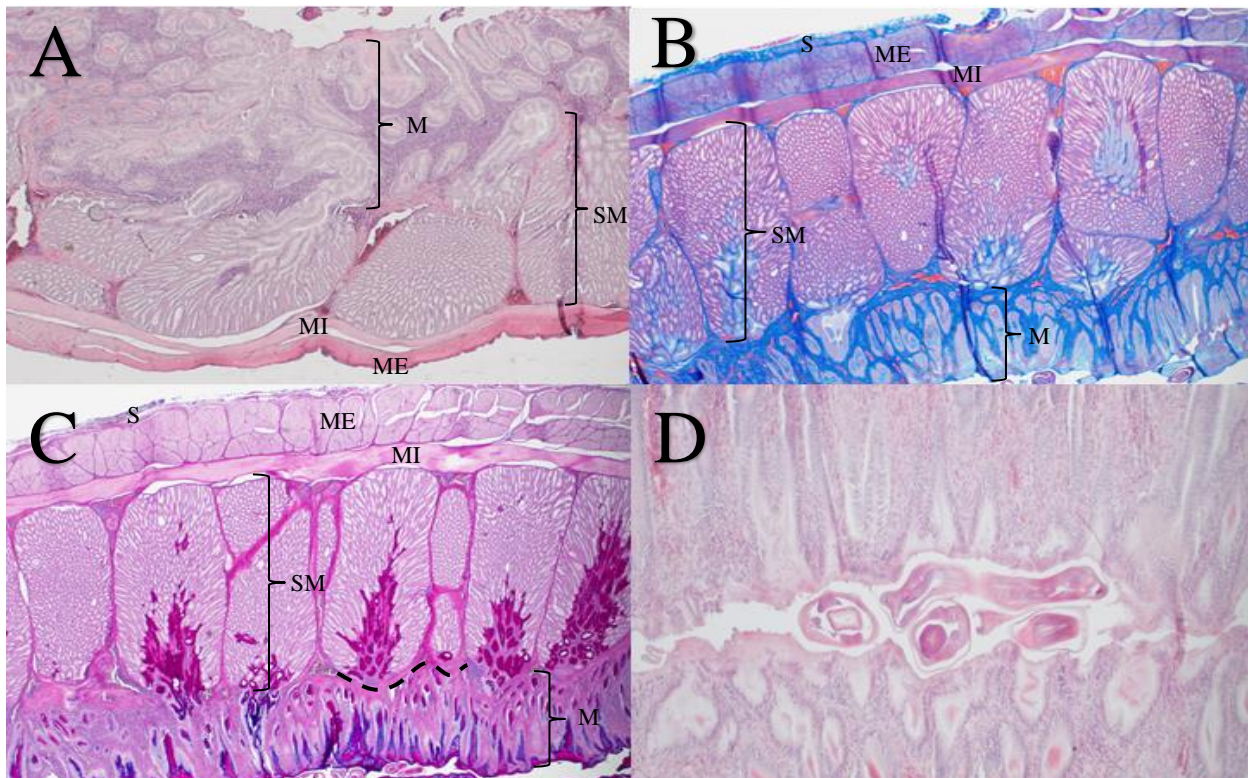


Fig.12. Cortes histológicos de proventrículo de corneja. M. Mucosa + inflamación (A); Muscular de la mucosa (línea discontinua); SM. Submucosa; ME. Muscular externa; MI. Muscular interna; S. Serosa. Capilaria (D). H&E (A y D), AZAN (B) y PAS-Azul alcian (C); 4X (A, B, C) y 20X (D). Elaboración propia.

### 4.3 Ventrículo

En la mucosa de este órgano, el epitelio de revestimiento varía de cilíndrico simple a cúbico y aparece recubierto por una capa de koilina (**Fig. 13B, Fig. 14A a F**) PAS-positiva (**Fig. 14C y 14D**), que se tiñe de un amarillo intenso con el AZAN (**Fig. 14E y 14F**) y que se invagina entre el epitelio glandular (**Fig. 13B**). La lámina propia contiene glándulas tubulares simples a ramificadas con epitelio cúbico.

La muscular de la mucosa no se identificó ni en la cigüeña ni en la corneja, pero sí en el alcatraz, consistiendo en una capa de fibras musculares lisas muy fina que se ve en las muestras teñidas con AZAN al aparecer de color morado (**Fig. 13D**) y que se pierde en algunas zonas.

La submucosa está compuesta por tejido conectivo, con vasos sanguíneos, nervios y tejido linfóide difuso, siendo muy similar tanto en la cigüeña como en el alcatraz (**Fig. 13A y 13C**). No se identificó en la corneja.

La capa muscular estaba tremendamente desarrollada, característica típica de este órgano. En las tres especies consta de 2 capas muy gruesas. Sin embargo, en el caso del alcatraz y la corneja, la capa externa se dispone longitudinalmente y la interna circularmente (**Fig. 13C y 13D, Fig. 14A a 14F**); mientras que en la cigüeña ambas capas presentaban disposiciones contrarias (**Fig. 13A**).

La túnica serosa, como en el proventrículo, presenta tejido conectivo rico en vasos sanguíneos y nervios recubiertos por mesotelio (**Fig. 13D**).

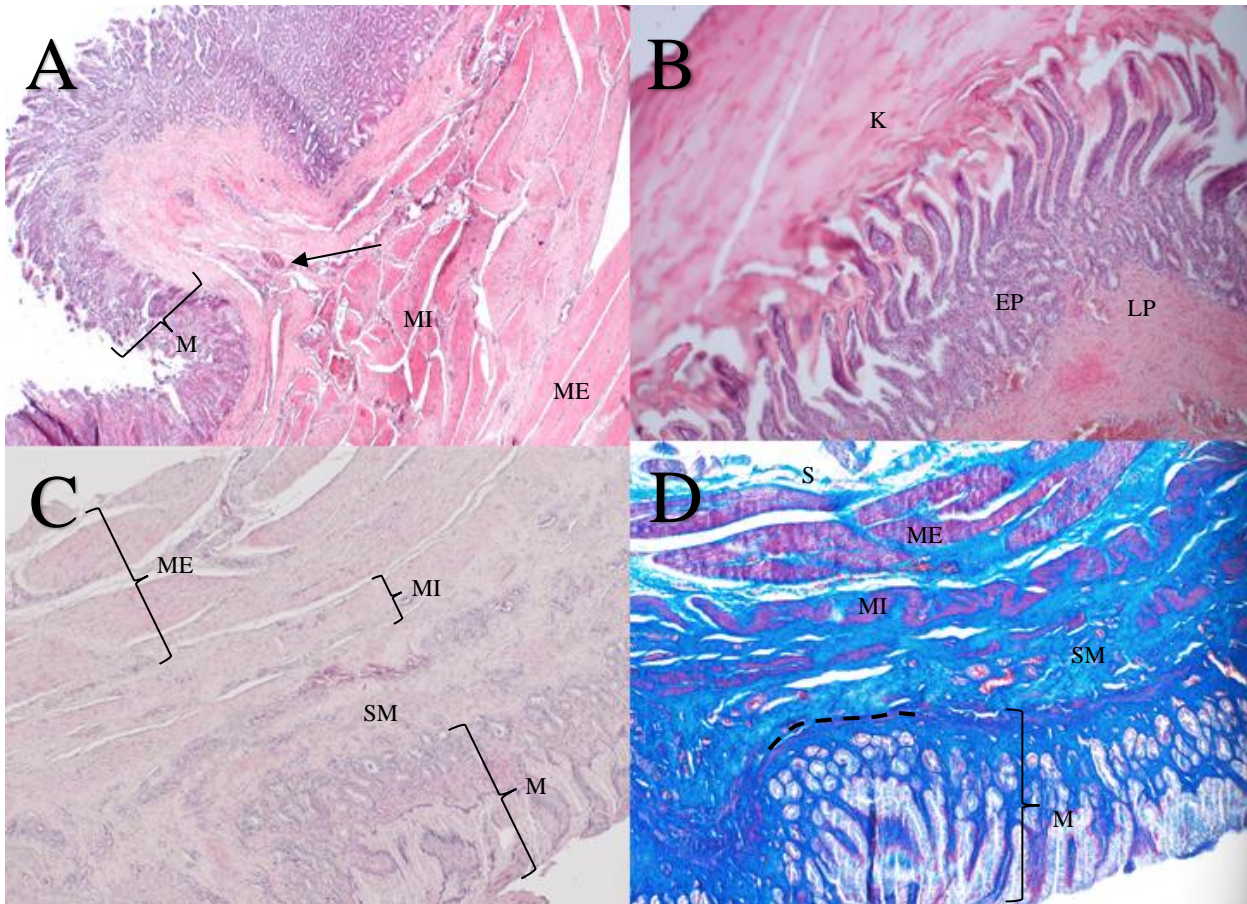


Fig.13. Cortes histológicos de ventrículo de cigüeña (A y B) y de alcatraz (C y D). EP. Epitelio; LP. Lámina propia; K. Koilina; M. Mucosa; Muscular de la mucosa (línea discontinua); Submucosa (flecha); SM. Submucosa; ME. Muscular externa; MI. Muscular interna; S. Serosa. H&E (A, B y C), AZAN (D); 4X (A, C y D) y 10X (B). Elaboración propia.

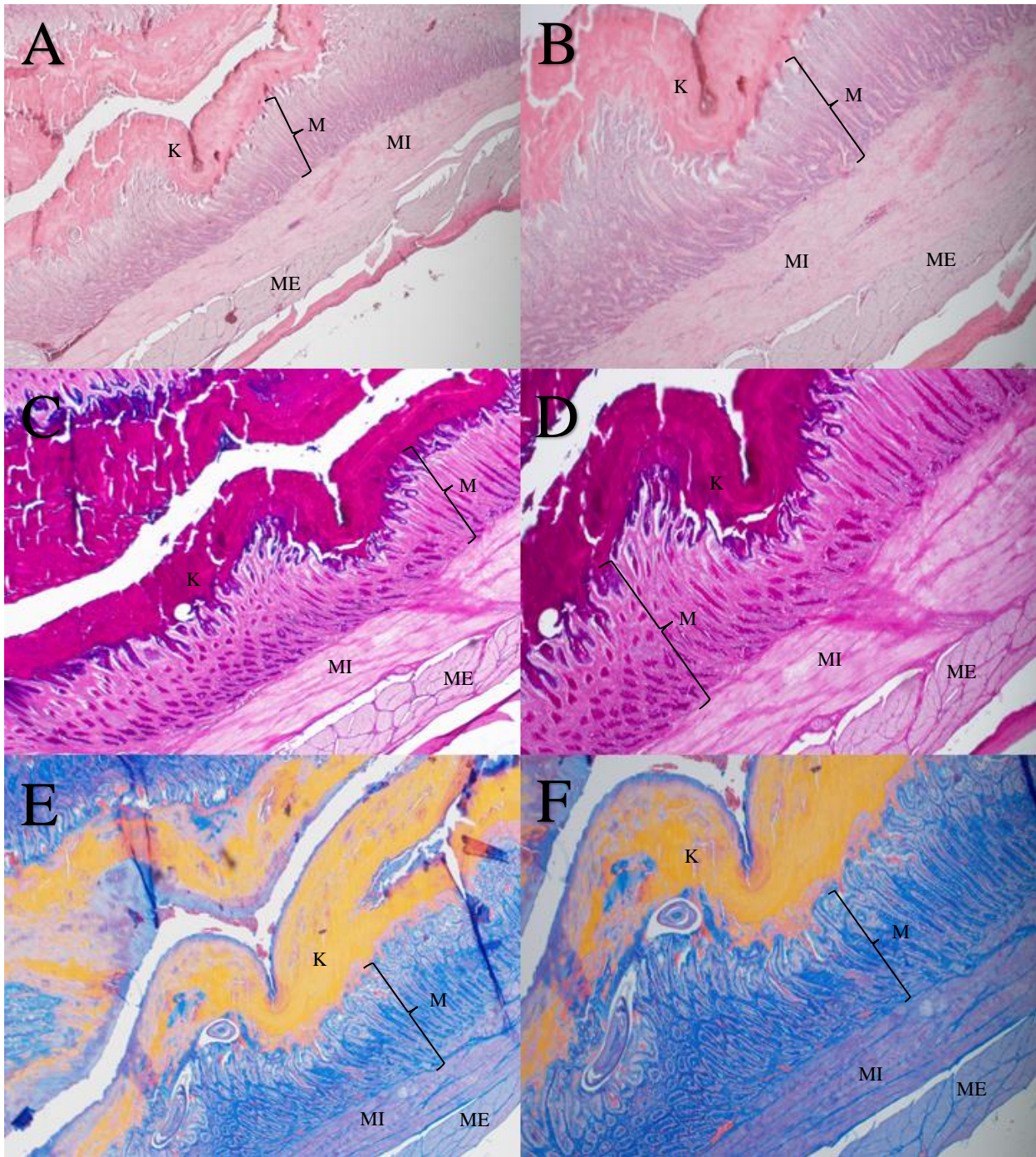


Fig.14. Cortes histológicos de ventrículo de corneja. K. Koilina; M. Mucosa; ME. Muscular externa; MI. Muscular interna. H&E (A y B), PAS-Azul alcian (C y D), AZAN (E y F); 4X (A, C, E) Y 10X (B, D, F). Elaboración propia.

## 5. Discusión

Una vez analizados los resultados obtenidos, nuestro estudio mostró que la pared de los tres órganos estaba compuesta por cuatro capas: mucosa, submucosa, muscular y serosa. Esto está en contraposición a lo observado por Marshall and Folley (1956) en dos especies de salanganas asiáticas "*Collocalia spp.*", que solo describieron tres capas, aunque coincide con otros autores (Hodges, 1974; Rocha and De Lima, 1998; Kadhim et al., 2011) cuyos estudios en el gallo "*Gallus gallus*" sí describen las cuatro capas.

### 5.1 Esófago

El epitelio de la mucosa esofágica era de tipo estratificado no queratinizado, hecho común descrito en otras aves como el avestruz "*Struthio camelus var. domesticus*" (Illanes et al., 2006) o el guacamayo "*Ara ararauna*" (Rodrigues et al., 2012). Sin embargo, Rajabi and Nabipour (2009) detallan el epitelio como estratificado queratinizado en 6 especies distintas: paloma bravía "*Columbia livia*", tórtola turca "*Streptopelia decaocto*", cotorra de Kramer "*Psittacula krameri*", cernícalo vulgar "*Falco tinnunculus*", gorrión común "*Passer domesticus*" y pardillo común "*Linaria cannabina*".

La lámina propia presentaba glándulas tubulares simples. En la gallina se describen como glándulas tubuloacinares compuestas (Dellmann and Eurell, 1998) y en el avestruz como tubuloalveolares simples y también ramificadas (Illanes et al., 2006). Por otra parte, Delhon et al. (1984) en aves domésticas hace hincapié en la variedad de formas de estas glándulas, las cuales van cambiando a lo largo del esófago. Y Bacha (2001) señala que, en el caballo "*Equus ferus caballus*", el gato "*Felis silvestris catus*" y en rumiantes, sólo aparecen estas glándulas en la submucosa.

Los resultados del estudio de la lámina propia sugieren que las diferencias en el número y tamaño de las glándulas de la corneja con respecto a las de las otras dos aves, pueden ser debidas a los distintos hábitos alimentarios y, por lo tanto, las diferentes necesidades a la hora de pasar el alimento a través de la luz esofágica. Franzo et al. (2021) han descrito unas glándulas muy similares a las aquí observadas en el esófago del carcará del sur "*Polyborus plancus*", especie con la cual la corneja comparte hábitos omnívoros de alimentación.

En la muscular de la mucosa en el alcatraz, aparecía una sola capa de fibras musculares lisas, lo que concuerda con lo descrito por Illanes et al. (2006) en el avestruz y Dellmann and Eurell

(1998) en las aves domésticas. Además, en la gallina (Delhon 1984) se describen dos capas: una externa de disposición longitudinal y otra interna circular. En contraposición a todos estos autores, nuestro estudio reveló la ausencia de esta capa en la corneja y en la cigüeña.

En cuanto a la submucosa, aparecía como una capa delgada y sin la presencia de glándulas en las tres especies. Esto ocurre también en el avestruz (Illanes et al., 2006) y en la gallina (Dellmann and Eurell, 1998). Por el contrario, como ya se ha mencionado, en el gato, caballo y rumiantes, aparecen en la unión faringoesofágica (Bacha, 2001).

La muscular, en el caso de la corneja, estaba formada por dos capas de fibras musculares lisas de disposición longitudinal la externa y circular la interna. Este hecho es común en la gallina (Dellmann and Eurell, 1998) y en el avestruz (Illanes et al., 2006). Contrariamente a estas descripciones, pero de acuerdo con los hallazgos descritos por North et al. (2016) en el estornino común o europeo "*Sturnus vulgaris*", en el alcatraz y la cigüeña pudimos observar que la disposición de las capas era contraria, circular la externa y longitudinal la interna.

Por último, la adventicia estaba formada por tejido conectivo con fibras nerviosas y vasos sanguíneos. Al entrar en cavidad abdominal cambiaba a serosa. Esto es similar a lo descrito por Zaher et al. (2012) en la cordorniz "*Coturnix coturnix*".

## 5.2 Proventrículo

El epitelio de la mucosa proventricular cambiaba de cilíndrico simple a cúbico. Esto concuerda con lo descrito en el gallo por Kaddhim et al. (2011). Sin embargo, Zhu et al. (2013) describe como en la codorniz el epitelio en lugar de ir cambiando de cilíndrico a cúbico, va desapareciendo en los pliegues de las papilas.

La muscular de la mucosa se observaba poco desarrollada, al igual que lo descrito por Claver (2014), pero no coincide con la mayoría de estudios (Rodrigues et al., 2012; Chikilian et al., 1996; Rocha and De Lima, 1998; Farner, 1960), en los que se describen dos capas musculares, una externa y otra interna, entre las cuales se entrelazan las glándulas proventriculares. Por otro lado, Rossi et al. (2005), en perdizes "*Rhynchotus rufescens*", describieron que la muscular de la mucosa se dividía en dos capas sólo en la unión esofago-proventricular y Catroxo et al. (1997) en la cardenilla capirroja "*Paroaria gularis gularis*" no identificó esta capa.

En este estudio, la submucosa es la capa que contiene las glándulas proventriculares. Esto coincide con lo detallado en el gallo por Toner (1963) y Selvan et al. (2008). Sin embargo, varios autores, en tinámidos "*Tinamidae spp.*" (Chikilian et al., 1996) y en la gallina (Selander, 1963), sitúan estas glándulas en la lámina propia. Para Hodges (1974) y Kadhim et al. (2011), en el gallo la submucosa aparece como una capa muy reducida de tejido conectivo y, por otro lado, Rocha and De Lima (1998) en la lechuza "*Athene cunicularia*" no identificaron esta capa.

En la capa muscular nos encontrábamos con muchas diferencias entre las tres especies tanto en el número de capas como en su disposición. La cigüeña presentaba 3 capas: una interna de disposición circular, una media longitudinal y, por último, otra externa circular. Autores como Catroxo et al. (1997), Ogunkoya and Cook (2009) o Banks (1992) concuerdan con el número de capas, pero discrepan en su disposición. Estos tres autores describen las capas musculares interna y externa como longitudinales, mientras que la media sería circular.

En el alcatraz observábamos solo 2 capas: una interna de disposición longitudinal y otra externa circular, al igual que lo observado por Rossi et al. (2005) en la perdiz, Sayrafi (2020) en el estornino común y Abumandour (2014) en el alcotán europeo "*Falcon subbuteo*". Lo contrario nos lo encontrábamos en la corneja, que, aunque también presentaba 2 capas, la disposición era contraria a las del alcatraz. Esta disposición coincide con lo explicado por Kadmin et al. (2011) y Hodges (1974) en el gallo.

En contraposición a todos los estudios mencionados anteriormente, Rodrigues et al. (2012) describieron en el guacamayo la presencia de una única capa muscular en los guacamayos.

AbdElnaeem et al. (2019) especifica que las aves en cuya alimentación se incluye el pescado, como es el caso de la cigüeña, requieren un tracto digestivo relativamente especializado. Este hecho, sumado a la variedad y tamaño de presas y a la cantidad de alimento ingerido, creemos que podría justificar estas diferencias en la capa muscular.

Nuestra descripción de la tunica serosa concuerda con la gran mayoría de autores, estando compuesta por tejido conectivo rico en vasos sanguíneos y nervios recubiertos por mesotelio (Hodges, 1974; Catroxo et al., 1997; Rocha and De Lima, 1998). Sin embargo, Rossi et al. (2005) reportaron la presencia de fibras de músculo liso dentro de la tunica serosa.

### 5.3 Ventrículo

La mucosa del ventrículo nos la encontrábamos tapizada por la cutícula o koilina. Cabe destacar que otros autores han denominado a esta sustancia con el nombre de queratinoide o koilin, como es el caso de McLelland (2000) y Kadhim et al. (2011) en el gallo, mientras que Delhon et al. (1984) e Illanes et al. (2006) la detallan como un estrato córneo grueso y le dan el nombre de glicocáliz o cutícula, en el gallo y en el avestruz, respectivamente. En el presente estudio, la koilina se mostró PAS-positiva, como también se ha descrito en el gallo (Kadhim et al., 2011).

El epitelio de revestimiento variaba de cilíndrico simple a cúbico y en la lámina propia, se observaban glándulas tubulares simples a ramificadas con epitelio cúbico. Illanes et al. (2006) en el avestruz también describía el mismo tipo de revestimiento, pero las glándulas presentes en la lámina propia eran de forma tubuloalveolar simples y ramificadas. Por otra parte, Catroxo et al. (1997) en la cardenilla capirroja, las describía únicamente como glándulas tubulares simples.

La muscular de la mucosa no se identificó ni en la cigüeña ni en la corneja. Esto coincide con los hallazgos de Catroxo et al. (1997) y Dellmann and Eurell (1998). Por otro lado, sí la observábamos en el alcatraz, al igual que en el avestruz (Illanes et al., 2006) y en la lechuza (De Oliveira and Iforzato, 1998).

La capa submucosa en la cigüeña y el alcatraz era una capa de tejido conectivo similar a la descrita por Zhu et al. (2013) en el picogordo chino "*Eophona migratoria*". Contrariamente a este estudio, en la corneja no se identificó esta capa.

En la muscular nos encontrábamos con 2 capas en las 3 especies. Esto coincide con varios autores como: Jain (1976), Rocha and De lima (1998), Catroxo et al. (1997) y Gabella (1985). Sin embargo, otros autores como Illanes et al. (2006), Hodges (1974), Kadhim et al. (2011) y Imaizumi et al. (1969) describen la presencia de 3 capas de fibras musculares. Y por último, Rodrigues et al. (2012) describe una única capa muscular.

Para finalizar, la túnica serosa, que estaba constituida por tejido conectivo rico en vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas. Similar a lo descrito por Zaher et al. (2012) en la codorniz, aunque este autor describe a mayores una capa subserosa presente después de la serosa.

## 6. Conclusiones

- Con la realización de este trabajo se ha llevado a cabo un estudio histológico en profundidad de diferentes tramos digestivos de la cigüeña, alcatraz y corneja que nos han permitido describir y diferenciar las capas de la pared de cada órgano y sus peculiaridades.
- Se han establecido las principales diferencias histológicas entre las tres aves, siendo lo más destacable el mayor tamaño y menor cantidad de glándulas en la lámina propia del esófago de la corneja; y un mayor número de capas musculares y su peculiar disposición en el proventrículo de la cigüeña.
- También se han podido vincular estas diferencias histológicas con su tipo de alimentación, cantidad de alimento ingerido y el tamaño de las presas. Las glándulas del esófago de la corneja están estrechamente relacionadas con sus hábitos omnívoros y, así mismo, el número y disposición de las capas musculares del proventrículo de la cigüeña con sus hábitos piscívoros y carnívoros.

## 7. Bibliografía

1. AdbElnaeem, A., Elshaer, F., Rady, M., 2019. Histological and histochemical studies of the esophagus and stomach in two types of birds with different feeding behaviors. *International Journal of Development* 8, 23-40.
2. Abumandour, M.M.A., 2014. Histomorphological studies on the stomach of Eurasian Hobby (Falconidae, *Falco Subbuteo*, Linnaeus1758) and its relation with its feeding habits. *Life Science Journal*, 11(7), 809-819.
3. Bacha, L.M., Bacha W.L., 2001. Aparato digestivo. En: Atlas a color de Histología Veterinaria. Buenos Aires, Inter-Médica, 304.
4. Banks, W.J., 1992. Histología veterinaria aplicada. Sao Paulo, Brazil: Manhole p. 629.
5. Barbeito, C.G., González, N.V., Mario, R., 2014. Histología de las aves. D – Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata.
6. Bolopo, D., Canestrari, D., Baglione, V., 2015. Corneja negra – *Corvus conone* Linnaeus, 1758 25.
7. Cano, D.F.G., 2010. Anatomía específica de aves: Aspectos funcionales y clínicos. 17.
8. Catroxo, M.H.B., Lima, M.A.I., Cappellaro, C.E.M., 1997. Histological aspects of the stomach (proventriculus and gizzard) of the red-capped cardinal (*Paroaria gularis gularis*). *Rev. Chil. Anat.* 15, 19-27.
9. Chikilian, M., De Speroni, N.B., 1996. Comparative study of the digestive system of three species of Tinamou I. *Crypturellus tataupa*, *Nothoprocta cinerascens*, and *Nothura maculosa* (Aves: Tinamidae). *J. Morphol.* 228, 77-88.
10. Claver, J.A., 2014. Aparato digestivo de las aves 24.
11. De Oliveira, S., Inforzato, M., 1998. Histological aspects of the stomach of burrowing owl (*Speotyto cunicularia*, MOLINA, 1782). *Rev. Chil. Anat.* 16(2): 191-7.
12. Del Hoyo, J., Elliot, A., Sargatal, J., 1992. European Withe Stork. En: Lynx (ed) Handbook of the birds of the world, vol. 1.
13. Delhon, G.A., Fernández-Surribas, J., Gagna, G., Lacolla, D., Von Lawzewitsch, I., 1984. Aparato digestivo de las aves domésticas. En: Lecciones de histología veterinaria. Hemisferio Sur, Buenos Aires, pp. 54-111.
14. Dellmann, H.D., Eurell, J., 1998. Textbook of veterinary histology. 5th ed. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins.
15. Eljarrat, Et., Barón, E., Bosch, C., Máñez, M., Andreu, A., Sergio, Fabri., 2015. Evaluación del impacto sobre la fauna del Parque Nacional de Doñana asociado al uso de nuevos contaminantes retardantes de llama.

16. Farner, D.S., 1960. Digestion and the digestive system. In: *Biology and Comparative Physiology of birds* (A.J. Marshall ed.). New York: Academic Press, pp. 411-467.
17. Franzo, V.S., Oliviera, L.P. de, Viana, A.C.P., Ramos, A.T., Bertolino, J.F., Adorno, B.A., Araújo, D.P. de, Amoroso, L., Vulcani, V.A.S., 2021. Histological análisis of the tongue, esophagus and crop of Southern Carcará (*Polyborus plancus*). RSD 10, e21410212439.
18. Fundación CRAM, 2019. Alcatraz Común (*Morus bassanus*) | URL: <https://cram.org/catalogo-de-especies/aves-marinas/pelicanos-afines/alcatraz-comun/> (accessed 6.7.21).
19. Gabella, G., 1985. Chicken gizzard. The muscle, the tendon and their attachment. *Anat. Embryol.* 171, 151-162.
20. García, J.M.G., 1997. Evolución y situación actual de la población calagurritana de cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*) 16.
21. Hamer, K., Phillips, R., Wanless, S., Harris, M., Wood, A., 2000. Foraging ranges, diets and feeding locations of gannets *Morus bassanus* in the North Sea: evidence from satellite telemetry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 200, 257-264.
22. Hodges, R.D., 1974. *The Histology of the Fowl*. London: Academic Press, pp. 35-38.
23. Illanes, J., Fertilio, B., Chamblas, M., Leyton, V., Verdugo, F., 2006. Descripción Histológica de los Diferentes Segmentos del Aparato Digestivo de Avestruz (*Struthio camelus var. domesticus*). *Int. J. Morphol.* 24.
24. Imaizumi, M., Hama, K., 1969. An electron microscopic on the intestinal cells of the gizzard in the love-bird (*Uroloncha domestica*), *Z. Zellforsch.* v.97, pp. 351-7.
25. Jain, D.K., 1976. Histomorphology and proteolytic activity in the gastric apparatus of frungivorous, carnivorous and omnivorous species of birds. *Acta Biol. Acad. Sci. hung.* V.27, pp. 135-45.
26. Juberías, G., Puerta, E.M., González, A., Cuadrado, M., 2014. Éxito reproductor de la colonia de cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*) en los jardines del zoobotánico de Jerez (Cádiz) desde 2014 a 2016 5.
27. Kadhim, K.K., Zuki, A.B.Z., Noordin, M.M., Babjee, S.M.A., 2011. Histomorphology of the Stomach, Proventriculus and Ventriculus of the Red Jungle Fowl: Histomorphology of the Red Jungle Fowl Stomach. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 40, 226-233.
28. Klem, D.J., Brancato, C.R., Catalano, J.T., Kuzmi, F.L., 1982. Gross morphology and general histology of the esophagus, ingluvies, and proventriculus of the house sparrow *Passer domesticus*. *Porc. Pa. Acad. Sci* 56.
29. Marshall, A.J., Folley, S.J., 1956. The origin of nest cement in edible-nest swiftlets. *Porc. Zool. Soc.* 126, 383-389.

30. McLelland, J., 2000. Sistema digestivo de las aves. En: Sisson, S.; Grossman, J. D. Anatomía de los animales domésticos. Madrid, Masson. V. 1. Pp 2035-2063.
31. North. M.A., Movassaghi, A.R., Smits, J.E.G., 2016. Anatomy and Histology of the Gastrointestinal Tract of European Starlings (*Sturnus Vulgaris*). Avian Biology Research 9, 257-264.
32. Ogunkoya, Y.O., Cook, R.D., 2009. Histomorphology of the Proventriculus of three Species of Australian Passerines: *Lichmera indistincta*, *Zosterops lateralis* and *Poephila guttata*. Anatomia, Histologia, Embryologia 38, 246-253.
33. Rajabi, E, Nabipou, A., 2009. Histological Study on the Oesophagus and Crop in Various Species of Wild Bird. Avian Biology Research 2, 161-164.
34. Rocha, D.O.S., De Lima, M.A.I., 1998. Histological aspects of the stomach of burrowing owl. Rev. Chil. Anat. 16, 191-197.
35. Rodrigues, M.N., Abreu, J.A.P., Tivane, C., Wagner, P.G., Campos, D.B., Guerra, R.R., Rici, R.E.G., Miglino, M.A., 2012. Microscopical study of the digestive tract of Blue and Yellow macaws.
36. Rossi, J.R., Baraldi-Artoni, S.M., Oliveira, D., Cruz, C. da, Franzo, V.S., Sagula, A., 2005. Morphology of glandular stomach (Ventriculus glandularis) and muscular stomach (Ventriculus muscularis) of the partridge *Rhynchotus rufencens*. Cienc. Rural 35, 1319-1324.
37. Sayrafi, R., Aghagolzadeh, M., 2020. Histological and histochemical study of the proventriculus (Ventriculus glandularis) of common starling (*Sturnus vulgaris*). Anat Histol Embryol 49, 105-111.
38. Selander, U., 1963. Fine structure of the oxyntic cells in the chicken proventriculus. Acta Anat. 55, 299-310.
39. Selvan, P.S., Ushakumary, S., Ramesh, G., 2008. Studies on the Histochemistry of the Proventriculus and Gizzard of Post-Hatch Guinea Fowl (*Numida meleagris*). International J. of Poultry Science 7, 1112-1116.
40. Sibly, R.M., 1981. Strategies of digestion and defecation. In: Physiological Ecology: An Evolutionary Approach to Resource Use (C.R. Townsend and P. Calow eds.). Massachusetts: Sunderland.
41. Stinson, A.W., Calhoun, M.L., 1993. Sistema digestivo. EN: Dieter Dellmann, H. Histología Veterinaria. Zaragoza, Acribia, pp. 239-56.
42. Toner, P.G., 1963. The fine structure of resting and active cells in the submucosal gland of the fowl proventriculus. J. Anat. 97, 575-583.

43. Zaher, M., ElGhareeb, A., Hamdi, H., Abuamod, F., 2012. Anatomical, histological and histochemical adaptations of the avian alimentary canal to their food habits: I-*Coturnix coturnix*. Life Science Journal. 9(3), 253-275.
44. Zhu, L., Wang, J.J., Shi, X.D., Hu, J., Chen, J.G., 2013. Histological Observation of the Stomach of the Yellow-billed Grosbeak. Int. J. Morphol. 31, 512-515.