

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO
ABAD DEL CUSCO**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA



**MORFOMETRÍA DEL ESPERMATOZOIDE DEL VENADO COLA
BLANCA (*Odocoileus virginianus peruvianus*)**

Tesis presentada por el Bachiller en Ciencias Agrarias: GREGORIO NINA NINA. Para optar al Título Profesional de INGENIERO ZOOTECNISTA.

ASESORES:

Ing. Zoot. CESAR DOMINGO ORDOÑEZ RODRÍGUEZ

Ing. Zoot. MIGUEL AYALA CALDERÓN

Ing. Zoot. M.Sc. HERNÁN CARLOS CUCHO DOLMOS

K'AYRA – CUSCO – PERÚ

- 2018 -

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres:

Hermenegildo y Luisa

Con mucho cariño y Amor, a quienes debo la vida y un eterno reconocimiento; por sus consejos y apoyo moral en todo momento de mi vida académica, permitiéndome lograr mis metas y concluir mis estudios universitarios

A mis hermanas:

Nelly, Roció, Virginia, Norma, Olimpia

A ellos con mucho cariño por su comprensión, constante apoyo y consejos en los momentos más difíciles de mi vida universitaria.

Al Ing. Royer Quispirimachi Ayma, por el apoyo en la parte experimental de mi investigación de venado de cola blanca, sé que usted estará orgulloso por la finalización de esta investigación.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que, de una manera u otra, han participado en el desarrollo y elaboración de esta tesis, y en especial:

A mis asesores de tesis: Ing. Cesar Ordoñez Rodríguez; M.Sc. Hernán Cucho Dolmos e Ing. Miguel Ayala Calderón, quienes han dirigido mi trabajo de investigación, por la oportunidad, tiempo, conocimiento y paciencia que me ha brindado para poder realizar este proyecto y así finalizar mis estudios de Pregrado.

Agradecer también a mis amigos de FAZ, Royer, Alex, Washington, José Carlos. A mis compañeros de laboratorio: Abel, Cañarí, Ruth, Deysi, Isabel, Fredy. Por el trato recibido, con quienes he compartido laboratorio durante el proceso experimental.

A todos y cada uno de mis profesores de la Escuela Profesional de Zootecnia, quienes con su sapiencia pudieron guiarme por el sendero de los nuevos conocimientos.

Ami enamorada Judith que me apoyo emocionalmente en mi trabajo de investigación.

A mis compañeros y grandes amigos del código 2009: Américo Suma, Noé, Ernesto, Andrés Villegas, William, Américo Condori, Ciriaco, Mirian, Nayda, Gabriela, Karen. Por la amistad brindada durante toda mi estancia en la Universidad, con quienes formé un bonito lazo de amistad y que estoy seguro que perdurará en el tiempo.

A los integrantes del Circulo De Estudios CAIZA (Consultores Asesores Ingenieros Zootecnistas En Acción) donde consolidamos una familia con muchos sueños.

Un gran reconocimiento a mi hermana Roció y esposo Felipe.

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMA OBJETO DE ESTUDIO.	2
1.1 Descripción del Problema.	2
1.1.1 Problema General.	2
1.1.2 Problemas Secundarios	2
OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	4
2.1 OBJETIVOS	4
2.1.1 OBJETIVO GENERAL	4
2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
2.2 JUSTIFICACIÓN	5
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1 MORFOMETRIA DEL ESPERMATOZOIDE DE (VENADO DE COLA BLANCA)	6
3.1.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
3.1.2 ANTECEDENTES INTERNACIONALES	6
3.1.3 ANTECEDENTE NACIONAL	7
3.2 DESCRIPCIÓN DEL VENADO COLA BLANCA (<i>O. virginianus</i> <i>peruvianus</i>).....	8
3.2.1 DESCRIPCIÓN FENOTÍPICA DE VENADO DE COLA BLANCA	8
3.2.2 Descripción morfológica del Venado Cola Blanca.....	10
3.2.3 Etología del Venado Cola Blanca (<i>O. virginianus peruvianus</i>).....	11
3.2.4 Taxonomía del Venado Cola Blanca (<i>O. virginianus peruvianus</i>)	12
3.2.5 Distribución Geográfica y Habitación.....	14
3.3 REPRODUCCIÓN DEL VENADO COLA BLANCA.....	18
3.3.1 Fisiología reproductiva del macho.....	18
3.3.2 Anatomía reproductiva del macho.....	20
3.3.2.1 Testículos.	20
3.3.2.2 El epidídimo	20
3.3.2.3 Glándula Vesicular	21

3.3.2.4 Próstata	21
3.3.2.5 Pene	21
3.4 MÉTODOS DE COLECCIÓN SEMINAL EN VENADOS	22
3.4.1 Colección seminal postmortem	22
3.4.2. Colección seminal por electroeyaculación	23
3.5 TÉCNICAS DE VALORACIÓN SEMINAL Y CALIDAD ESPERMÁTICA	25
3.5.1 Características de cantidad y producción seminal	26
3.5.2.1 Motilidad.....	27
3.5.2.2 Integridad de la membrana plasmática del espermatozoide (vitalidad)	29
3.5.2.3 Morfología y morfometría espermática	30
3.6 SISTEMAS COMPUTARIZADOS PARA EL ANÁLISIS ESPERMÁTICO	33
3.6.1 Características seminales que evalúa el ISAS.....	34
3.6.1.1 Motilidad y concentración espermática.....	34
3.6.1.2 Morfología y morfometría espermática.....	35
MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
4.1 DEL LUGAR DE ESTUDIO	37
4.1.1 Ubicación Geográfica.....	37
4.2 MATERIALES Y EQUIPOS	37
4.2.1 Animales y materiales para la colección de semen.....	37
4.2.2 Materiales, reactivos y equipos de laboratorio	38
4.2.3 Equipos de laboratorio	39
4.3 DEL LABORATORIO	39
4.4 VARIABLES DE LA INVESTIGACION:	40
4.5 METODOLOGÍA DEL ESTUDIO.....	40
4.5.1 Colección de muestras (Gónadas).....	40
4.5.2 Mensuración testicular postmortem	42
4.5.3 Protocolo de colección seminal postmortem	43
4.6 Valoración de la producción seminal y calidad espermática	45
4.6.1 Análisis de las características de producción seminal	45
4.6.2 Análisis de la calidad - Morfometría espermática.....	45
4.7 DISEÑO Y ANÁLISIS DE LOS ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS	49
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES	50

5.1 CARACTERÍSTICAS DE LA MORFOMETRÍA ESPERMÁTICA DEL VENADO COLA BLANCA (<i>O. virginianus peruvianus</i>).....	50
5.1.1 EXAMEN MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE VENADO DE COLA BLANCA.	51
5.1.2 Variables de tamaño de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca (<i>O. virginianus peruvianus</i>).....	51
5.1.3 Variables de forma de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	53
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS	64

ÍNDICE DE CUADROS

Pag.

Cuadro N° 1 Clasificación taxonómica del Venado Cola Blanca (<i>O. virginianus peruvianus</i>).....	13
Cuadro N° 2 Listado de Subespecies del O. Virginianus y su distribución geográfica.....	17
Cuadro N° 3 Métodos de colección de semen en cévidos por autores.	25
Cuadro N° 4 Parámetro de la cinética del espermatozoide epididimario del ciervo rojo	29
Cuadro N° 5 Parámetros de morfometría espermática.	32
Cuadro N° 6 Morfométrica de la cabeza del espermatozoide de diferentes especies	33
Cuadro N° 7 Parámetros de motilidad espermática que evalúa el ISAS	35
Cuadro N° 8 Componentes del diluyente base TRIS (hidroxi-metil aminometano)	44
Cuadro N° 9. Valorización de la producción seminal de venado cola blanca	43
Cuadro N° 10. Dimensiones testiculares del venado de cola blanca	48
Cuadro N° 11 examen macroscópico y microscópico de venado de cola blanca.	49
Cuadro N° 12 Estadísticos descriptivos del tamaño de la cabeza espermática ..	49
Cuadro N° 13 Variables de forma de la cabeza espermática por animal	51
Cuadro N° 14 Estadística descriptiva de forma de la cabeza espermática.....	52
Cuadro N° 15 variables de la forma de la cabeza espermática.....	53

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Foto N° 1 Venado Cola Blanca peruano (<i>Odocoileus virginianus peruvianus</i>).....	9
Foto N° 2 Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) “La Raya”	37
Foto N° 3 Materiales de laboratorio para la colección y evaluación seminal.....	38
Foto N° 4 Equipo Integrated Sperm Analysis System (ISAS) v 1.1; microscopio de contraste de fases UB200i con cámara, platina caliente y fluorescencia.	39
Foto N° 5 Cronometría dentaria de venado de cola blanca.....	40
Foto N° 6 Separación de las gónadas de venado de cola blanca	41
Foto N° 7 Extracción de las envolturas testiculares	42

Foto N° 8	Mensuración del testículo del Venado Cola Blanca	43
Foto N° 9	Colección seminal epididimario postmortem	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Distribución en el Perú del Venado Cola Blanca (<i>O. virginianus peruvianus</i>).....	15
Figura N°2	Ciclo reproductivo del Venado Cola Blanca.	19
Figura N° 3	Parámetros cinéticos de motilidad obtenidos por el sistema CASA.....	28
Figura N°4	Parámetros de la evaluación de la morfometría.....	36

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico N° 1	Flujograma del protocolo de colección de semen postmortem en Venado Cola Blanca (<i>O. virginianus peruvianus</i>).....	48
Grafico N° 2	Gráfico de caja y bigotes del área espermática (μm) del Venado Cola Blanca.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Resolución SERFORT/DGGPFFS	65
Anexo 2	Estadísticos descriptivos de la morfometría espermática del Venado Cola Blanca.	69
Anexo 3	Largo de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	69
Anexo 4	Ancho de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	69
Anexo 5	Área de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	69
Anexo 6	Perímetro de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	69
Anexo 7	Elipticidad (l/w) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	70
Anexo 8	Rugosidad ($4\pi a/p^2$) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	70
Anexo 9	Elongación $(l-w)/(l+w)$ de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	70

Anexo 10	Regularidad ($\pi l w / 4 a$) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca	70
ANEXO 11	GRAFICO DE CAJA Y BIGOTES DE LA MORFOMETRIA ESPERMATICA DEL VENADO COLA BLANCA	71

GLOSARIO

CASA	: Computer Assisted Sperm Analysis.
CICAS	: Centro de Investigaciones en Camélidos Sudamericanos.
CITES	: Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.
Esp.	: Espermatozoide.
FAZ	: Facultad de Agronomía y Zootecnia.
ISAS	: Sistema Integrado de Análisis de Semen
PM	: post-mortem
PV	: Peso vivo
Reg.	: Regularidad.
Rug.	: Rugosidad.
SAS	: Sistema de Análisis Estadístico.
SERFOR	: Servicio Forestal y de Fauna Silvestre.
UICN	: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.
VCB	: Venado de Cola Blanca.

RESUMEN

El trabajo de investigación titulado “Morfometría del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*)”, se realizó entre Junio a noviembre del 2016, en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos “CICAS-La Raya” (Maranganí – Canchis - Cusco). Tuvo como objetivo principal determinar los parámetros de morfometría del espermatozoide epididimario del Venado Cola Blanca por análisis computarizado con el Sistema Integrado de Análisis de Semen (ISAS).

Se utilizó dos Venados de Cola Blanca provenientes de la caza deportiva, de los cuales se obtuvieron muestras de semen de la cola del epidídimo. Los parámetros de morfometría espermática determinadas en este estudio fueron, largo (μm), ancho (μm), área (μm^2) y perímetro (μm) de la cabeza del espermatozoide; también su elipticidad; rugosidad, elongación y regularidad, los que se analizaron con el ISAS®. todas estas variables se evaluaron con estadística descriptiva, empleando el paquete Statgraphics. El volumen seminal obtenida fue de 2.5, con Ph seminal de 5.85, los espermatozoides motiles fueron de 1.65%, a una concentración espermática de 54.3×10^6 spz/ml.

Los resultados obtenidos para las variables evaluadas de morfometria fueron: largo ($7,7 \pm 0,50 \mu\text{m}$); ancho ($3,9 \pm 0,21 \mu\text{m}$), área ($25,5 \pm 2,05 \mu\text{m}^2$) y perímetro ($22,0 \pm 1,60 \mu\text{m}$) de la cabeza del espermatozoide del venado de cola blanca. Además se evaluó las variables de forma de la cabeza, elipticidad ($2,0 \pm 0,14$), rugosidad ($0,7 \pm 0,07$), elongación ($0,3 \pm 0,03$) y regularidad ($0,9 \pm 0,04$), las que son adimensionales.

INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países más diversos biológicamente en el mundo, gracias a su variabilidad geográfica y climatológica. Considerando la especies de cérvidos existentes, el Perú posee siete de los trece especies nativas reconocidas para Sudamérica, reportándose en este grupo a la Taruka (*Hippocamelus antisensis*) y al Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) **Elias, R. y P. Vasquez(2015)**. El Venado Cola Blanca es un rumiante de la familia Cervidae, que se maneja como especie cinegética en el sector Sauce Grande del Coto de Caza El Angolo (CCEA) en Piura - Perú. El Venado Cola Blanca es la única especie del género *Odocoileus* en el país, aunque no existen muchas publicaciones sobre ésta especie en nuestro país **Elias, R. (2015)**.

El Venado Cola Blanca no figura en la lista de especies en peligro de extinción en el Perú (Ministerio de Agricultura y Riego, 2014) y el mundo (Gallinas & Lopez Arevalo, 2016). Sin embargo, su población por ser una especie silvestre es protegida por el Estado en los Parques Nacionales.

A través de este trabajo de investigación se podrá conocer las características de la morfometría del espermatozoide epididimario del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*), presente en la región Cusco. Puesto que no se tiene ninguna bibliografía acerca del tema en este especie animal.

CAPÍTULO I

PROBLEMA OBJETO DE ESTUDIO.

1.1 Descripción del Problema.

La **UICN (1780)**, (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) cita al Venado de Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) como especie con datos insuficientes y en el **CITES (2006)**, (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres), indica al venado de cola blanca como especie amenazada en calidad de vulnerable por las entidades internacionales que fiscalizan y protegen especies a nivel mundial.

Entonces es importante tomar iniciativas de realizar proyectos o investigaciones que permitan realizar estudios esta especie con miras a promover su conservación, como es el presente sobre la Morfometría del espermatozoide del Venado Cola Blanca.

1.1.1 Problema General.

¿Cuáles son los parámetros de morfometría del espermatozoide epididimario del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con el Análisis computarizado (ISAS) y con los resultados podremos describir estos parámetros?

1.1.2 Problemas Secundarios

¿Cuál es el largo, ancho, perímetro y área de la cabeza del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con ISAS?

¿Cuál es la elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad de la cabeza del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con isas?

CAPÍTULO II

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los parámetros de morfometría del espermatozoide epididimario del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con el Sistema Integrado de Análisis Espermático (ISAS).

2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el largo, ancho, perímetro y área de la cabeza del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*).
- Determinar la elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad de la cabeza del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*).

2.2 JUSTIFICACIÓN

El Venado Cola Blanca peruano (*Odocoileus virginianus peruvianus*) es actualmente una especie silvestre protegida por el Estado Peruano en los Parques Nacionales. Sin embargo, se carece de publicaciones y trabajos de investigación en las áreas relacionados a la fisiología reproductiva de esta especie, en este contexto el objetivo principal de este trabajo de investigación es determinar los parámetros de morfometría del espermatozoide epididimario del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con el Sistema Integrado de Análisis Espermático (ISAS).

Es necesario evaluar las características seminales y espermáticas del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*) con el objetivo de realizar el manejo y conservación del semen. Es imprescindible realizar trabajos de investigación, que impliquen la aplicación de nuevas técnicas en el manejo y conservación de semen, que al final tendrá aplicación directa en la reproducción y repoblación de esta especie. Antes de proponer estrategias y programas de manejo para la conservación y producción del Venado Cola Blanca, aplicando biotecnologías reproductivas, es necesario conocer las características seminales de producción y cantidad espermática (Volumen seminal y Concentración espermática) y las características de calidad espermáticas (Motilidad, vitalidad y morfometría espermática). Este trabajo de investigación, pretende evaluar las características microscópicas de la morfometría del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*).

CAPÍTULO III

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 MORFOMETRIA DEL ESPERMATOZOIDE DE (VENADO DE COLA BLANCA)

Es la medición de la forma y estructura del espermatozoide de venado de cola blanca, que se pueden medir a partir de largo, ancho y perímetro del espermatozoide.

3.1.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.2 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Velazquéz, J. (2011), se colectaron espermatozoides de dos pares de testículos post-mortem de venado cola blanca del producto del aprovechamiento cinegético 2011 en la UMA Rancho Antrialgo, en el estado de Aguascalientes. También se evaluaron 10 eyaculados de venado cola-blanca del laboratorio de la UMA "Módulo de Producción de Venado la Huerta" del Colegio de Postgraduados, Campus SLP., las dos muestras de venado cola blanca fueron evaluadas en el momento del lavado de los epidídimos en refrigeración a -5°C con Biladyl® (tiempo 0) con movilidad masal de 50 y 60%, que se realizó en un lapso no mayor a 6 horas. La media de la concentración espermática de los epidídimos postmortem de venado fue de 827.5×10^6 espermatozoides mL. En el caso de los eyaculados de venado cola-blanca, la media en movilidad masal fue $91.8\% \pm 5.59$ y la media de las concentraciones espermáticas fue de $4,453.80 \times 10^6 \pm 1,714.15 \times 10^6$ espermatozoides mL, las muestras obtenidas de la cola del epidídimo de venado cola blanca **Velazquéz, J. (2011)**, los resultados fueron bajos en cuanto a movilidad masal y concentración de espermatozoides. Los resultados obtenidos de

los eyaculados de venado cola blanca los ubica como de buena calidad por lo que es recomendable para su conservación y uso posterior en inseminación artificial.

3.1.3 ANTECEDENTE NACIONAL

Quispirimachi, R. (2014), quien a colectado espermatozoides de 8 pares de testículos post mortem de taruka (*Hippocamelus antisensis*) para medir los parámetros de motilidad, vitalidad. (2014) en Cicas la raya. Por carecer de estas características microscópicas. Se utilizó la totalidad de las muestras para las características de morfometría y morfología, la edad de los animales oscilaba entre 2 y 6 años de edad aproximadamente. A los cuales se les extrajo los testículos y se procedió a coleccionar las muestras seminales a partir de un lavado del epidídimo con un dilutor en base Tris. Se determinó el Color, Volumen, pH, Motilidad, Concentración, Morfología, Morfometría y Vitalidad. Al ser un estudio exploratorio los resultados se evaluaron utilizando la estadística descriptiva empleando en procedimiento Univariate del SAS V8.0.

Los resultados fueron: dentro de las características macroscópicas se encontró un color blanco marfil (50%) y rojizo (50%), volumen recuperado de 4.243 ± 0.371 ml, y un pH de 6.882 ± 0.094 . Para las características microscópicas se encontró: en motilidad espermática según el tipo de movimiento; MP $2.523 \pm 1.805\%$, MNP $51.345 \pm 9.677\%$, E $46.130 \pm 24.208\%$, concentración espermática $101.887 \pm 41.128 \times 10^6$ spz/ml, (**R. Ccoiso Aguila, 2019**), los valores cinéticos del movimiento espermático fue: VCL 70.255 ± 42.197 ($\mu\text{m/s}$), VSL 16.719 ± 13.473 ($\mu\text{m/s}$), VAP 34.055 ± 2170 ($\mu\text{m/s}$), ALH 3.453 ± 1.714 (μm), BCF 5.725 ± 57.098 (Hz). En la morfología de los espermatozoides se encontró 75.809 % normales, 9.714 % piriformes, 1.571 % estrechos, 3.285 % cortos, 6.047 % redondeados, 2.523% largos y 1.04 % amorfos. Los valores para la morfometria espermática fueron: Largo

7.193 \pm 0.493 (μm), Ancho 3.909 \pm 0.273 (μm), Área 23.471 \pm 2.331 (μm^2), Perímetro 22.730 \pm 1.992 (μm), Acrosoma 50.182 \pm 7.500 (%). Tamaño de la pieza intermedia; Distancia 0.213 \pm 0.164 (μm), Angulo 6.389 \pm 5.966 (grados), (**García Vásquez, 2016**).

3.2 DESCRIPCIÓN DEL VENADO COLA BLANCA (*O. virginianus peruvianus*)

3.2.1 DESCRIPCIÓN FENOTÍPICA DE VENADO DE COLA BLANCA

(**Arenas, P. 2011**), El venado de cola blanca tiene una mancha blanca que se encuentra alrededor de la zona de la cola. Son de color marrón claro con tonos rojizos, esto puede variar dependiendo a la edad y la ubicación. Lo interesante es que sus cuerpos adquieren un color gris cuando se acerca el invierno y que dicha coloración se diseña para permitirles mezclarles con el entorno.

La familia Cervidae a la que pertenece el Venado Cola Blanca, se originó en Asia, desplazándose a través del tiempo a Europa y gradualmente hasta el Continente Americano. Los venados del género *Odocoileus* son los colonizadores más antiguos de América. El Venado Cola Blanca como parte del Género *Odocoileus* es uno de las especies más importantes en la explotación cinegético, ya que puede reproducirse con éxito en diferentes hábitats y condiciones climatológicas, desde bosques de pino encino, bosque subtropical, matorrales y desiertos (**Lovera et al., 2011; Rumiz et al., 2010**).

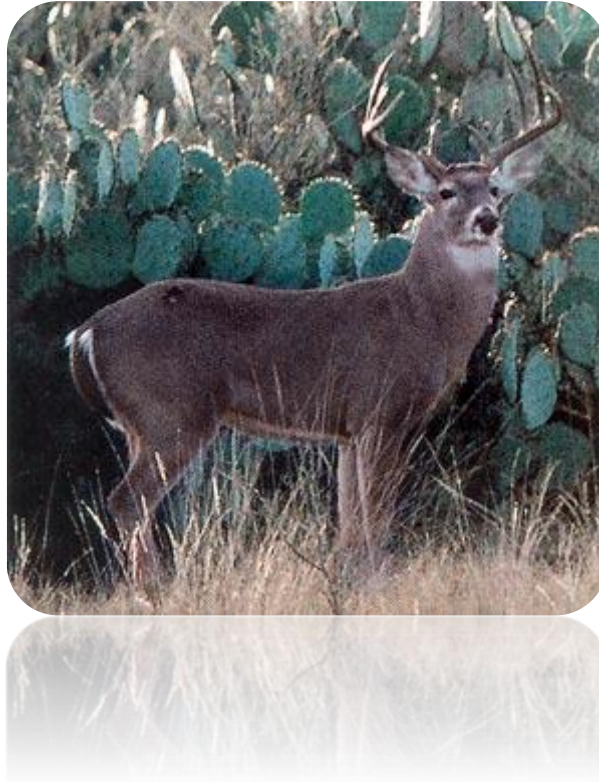


Foto N° 1 Venado Cola Blanca peruano (*Odocoileus virginianus peruvianus*)

(**R.Elias, 2015**), El Venado Cola Blanca es uno de las nueve especies de cérvidos reportadas para el Perú; es el único del género de *Odocoileus* en nuestro país, con un amplio rango de distribución que va a lo largo del litoral, desde Piura hasta Tacna.

Esta especie no figura en la lista de especies en peligro de extinción en el Perú (**Ministerio de Agricultura y Riego, 2014**) y el mundo (**Gallina & Lopez Arevalo, 2016**) de acuerdo a la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). Sin embargo su población se ha visto reducida debido a la caza furtiva del cual es objeto. Actualmente es una especie silvestre protegida por el estado en Parques Nacionales de Cerros de Amotape (Tumbes y Piura), Cutervo (Cajamarca), Huascarán (Ancash), Manu (Cusco y Madre de Dios), Tingo María (Huánuco), Yanachaga Chermillén (Pasco); Reservas Nacionales de Calipuy (La

Libertad), Lachay (Lima), Salinas y Aguada Blanca (Arequipa) y Santuario Histórico de Machupicchu (Cusco) (**Club de Caza Pesca y Turismo, 2010**).

3.2.2 Descripción morfológica del Venado Cola Blanca

(**Velazquéz, J. (2011)**, .nos indica que el Venado Cola Blanca peruano (*Odocoileus virginianus peruvianus*) presenta un dimorfismo sexual, al igual que la mayoría de los venados del Género *Odocoileus*; donde los machos presentan cornamenta y las hembras no. Las astas del macho, consisten en una rama central encorvada hacia adelante con puntas individuales vertical y ramificada. Las cornamentas empiezan a formarse a partir de 2 pequeñas protuberancias en el cráneo, al crecer, éstas se cubren por un terciopelo, se endurecen y comienzan a ramificarse. Finalmente, el terciopelo se cae y así la cornamenta queda completa, permanece durante una parte del año y después se les cae y se renuevan en el invierno, después del apareamiento; cada temporada tiende a incrementar su tamaño, por lo que las dimensiones y la forma son indicadores de la edad y la dominancia de los machos (**Velazquéz, J. (2011)**).

Otra característica de esta especie es que el color del cuerpo es café grisáceo en el invierno y café rojizo en el verano, con el vientre blanco (**Baker, 1984; Rumiz et al., 2010**). Pero excepcionalmente el Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*) no cambio de color de manto durante las estaciones (**Hewitt, 2011; Quispirimachi, 2014**). El Venado Cola Blanca mide incluida la cola entre 1,60 y 2,20 m de largo, y tienen una alzada a la cruz de 0.80 a 1 m. El peso de los animales a partir de un año de edad en adelante puede variar en machos de 36 a 57 kg. y en hembras de 27 a 45 Kg (**Gallina et al., 2010**). Las patas anteriores y las posteriores son de igual longitud por lo que la espalda se observa recta y horizontal a diferencia

de otras especies del género. Posee glándulas odoríferas alrededor de los ojos, en la frente y en las patas **Guano, M. (2016)**.

(Ruiz-García et al., 2009) en un trabajo de investigación de variabilidad genética en ciervos neotropicales, evaluados con marcadores microsatélites, demostró que hay un alto polimorfismo y variabilidad genética en ciervos neotropicales como el Venado Cola Blanca, los cuales varían en y entre, las diferentes Regiones geográficas de procedencia de los venados.

3.2.3 Etología del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)

(García Vásquez, 2016), describe que el Venado Cola Blanca presenta un patrón de actividad marcado durante las primeras horas del día y durante el crepúsculo, sin embargo gran parte de su actividad está determinada por el sexo, edad, época reproductiva, presencia de depredadores, disponibilidad de recursos y actividades humanas. Si bien los Venados Cola Blanca viven en grupos familiares, formando manadas de 15 a 20 venados, donde se puede observar dos grupo sociales básicos: grupo familiares formado por madres (matriarcado) y el grupo fraternal formado por machos adultos y ocasionalmente por machos jóvenes; pero en los andes peruanos se les pueden observar solitarios o en pares.

nos indica que Las astas que los machos desarrollan y se renuevan periódicamente, sirven a los machos adultos como atractivo y las utilizan para pelear durante la época de apareamiento, cuando compiten por las hembras. Utiliza las glándulas odoríferas conjuntamente con la orina para comunicarse, marcar el territorio, atraer al sexo opuesto y como señal de peligro. Cuando se siente amenazado, corre con la cola levantada para ponerse a cubierto. Se cree que el destello blanco actúa como señal visual de alarma para otros ciervos.

La condición de rumiante del Venado Cola Blanca le permite alimentarse de hojas y frutos, además de material vegetal de origen leñoso. Su tracto digestivo se encuentra adaptado a esos hábitos alimentarios con retículo y abomaso más grandes y proporcionados en relación al tamaño del rumen y el omaso, con glándulas salivales más desarrolladas y mejor adaptadas al consumo de materia vegetal rica en azúcares disueltos, taninos y otros compuestos químicos de las plantas leñosas (**Gallina et al., 2010; Rumiz et al., 2010**).

3.2.4 Taxonomía del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)

El Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*) fue descrito originalmente por el zoólogo británico **John Edward Gray en el año 1874**. El Venado Cola Blanca también denominado Lluichú (**Gallina et al., 2010**) pertenece a la familia de cérvidos más numerosa de los artiodáctilos a nivel mundial, estos animales se caracterizan por tener dos pezuñas funcionales en cada extremidad (Rumiz et al., 2010), la clasificación taxonómica del Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*) se puede observar en el cuadro 1.

Cuadro N° 1 Clasificación taxonómica del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Subfilo	Vertebrata
Clase	Mammalia
Orden	Artiodactyla
Familia	Cervidae
Género	Odocoileus
Especie	O. Virginianus
Subespecie	O. Virginianus peruvianus (Gray, 1874)

Fuente: Adaptado de (García Vásquez, 2016).

El nombre científico del Venado Cola Blanca proviene de Odous = diente y koilos = hueco o vacío “diente vacío” en alusión a que esta especie posee dientes ahuecados **Santiago, D. (2012)**. El Venado Cola Blanca carece de caninos e incisivos superiores. Los incisivos inferiores, son seis y están bien desarrollados, forman una fila semicircular que se adapta perfectamente a la almohadilla córnea superior para cortar la hierba. Los molares (en forma de media luna) presentan cada uno cuatro islotes de marfil rodeados de esmalte en la superficie de desgaste, para proveer al animal de una trituración completa del alimento **(Gallina et al., 2010; Rumiz et al., 2010; Santiago, D. 2012; Smith, 1991)**.

La Fórmula dentaria del Venado Cola Blanca peruano (***O. virginianus peruvianus***) es:

$$(I\ 0/3, C\ 0/1, PM\ 3/3, M\ 3/3) \times 2 = 32$$

I (incisivos), C (caninos), PM (premolares), M (molares)

Sumando en total de 32 piezas dentales, no presenta la glándula metatarsal

(Gallina *et al.* 2009).

3.2.5 Distribución Geográfica y Habitat

El Venado Cola Blanca se distribuye desde el sur de Canadá hasta el norte de Chile y Bolivia (**García Vásquez, 2016**),, área en donde se han registrado 38 subespecies (ver cuadro 2), dentro de los cuales se encuentra el Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*), el cual tiene un amplio rango de distribución por el territorio peruano, que va a lo largo del litoral, desde Piura hasta Tacna (**Elías, 2015**). Sin embargo su distribución ,geográfica abarca más allá de la frontera peruana, por el norte: Ecuador, Colombia y por el sur: Bolivia y Chile (**Rumiz *et al.*, 2010; Smith, 1991**), como se aprecia en la figura 1.

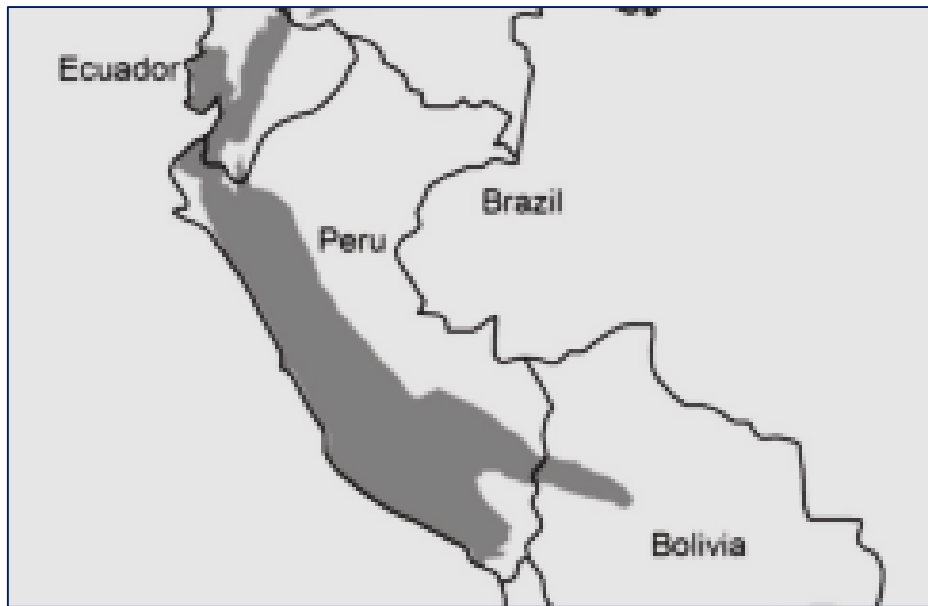


Figura 1 Distribución en el Perú del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)

Fuente: Adaptado de Smith, (1991), color marron del mapa muestra la distribución geográfica del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*).

En el Perú, la especie está presente tanto en los bosques secos del Noroeste peruano, como en los valles de las vertientes occidentales a lo largo de los Andes peruanos y los valles interandinos. No es frecuente en la ceja de selva y frecuentan temporalmente las punas, los páramos, las lomas costaneras y las partes bajas de los valles de la vertiente occidental de los Andes (estos últimos durante las épocas propicias: invierno en el caso de las lomas y épocas de lluvias intensa y por lo tanto vegetación en el segundo caso). Existen algunos reportes de *Odocoileus* en la selva alta, pero faltan estudios más completos de su presencia en estos hábitats (**Club de Caza Pesca y Turismo, 2010**).

Actualmente es una especie silvestre protegida por el estado en Parques Nacionales, desde Cerros de Amotape, en Tumbes y Piura, Cutervo en Cajamarca,

Huascarán en Ancash, Manu en Cusco y Madre de Dios, Tingo María en Huánuco, Yanachaga Chermillén en Pasco; Reservas Nacionales de Calipuy en la Libertad, Lachay en Lima, Salinas y Aguada Blanca en Arequipa; Santuario Histórico de Machupicchu en Cusco (**Club de Caza Pesca y Turismo, 2010**).

El área de actividad del Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*) es muy variable; sin embargo, se ha podido identificar que el promedio del tamaño de las áreas que ocupan las hembras es de 518 ha, y de 1,057 ha para los machos, mientras que su zona núcleo es de 189 ha y 447 ha, respectivamente. El área de actividad puede variar de acuerdo con la calidad y disponibilidad de recursos alimenticios **Arenas, P. (2011)**.

Cuadro N° 2 Listado de Subespecies del *O. Virginianus* y su distribución Geográfica.

N°	Subespecies	Localidad de distribución
1	<i>O. v. acapulcensis</i> (Caton, 1877)	Acapulco, Guerrero, México
2	<i>O. v. boreal</i> (Miller, 1990)	Booksport, Maine, EE.UU
3	<i>O. v. cariacou</i> (Boddaert, 1784)	Guayana, Guayana francesa costera
4	<i>O. v. carminis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Sierra del Carmen, norte de Coahuila, México
5	<i>O. v. chiriquensis</i> (J. A. Allen, 1910)	Boquerón, Chiriquí, Panamá
6	<i>O. v. clavium</i> (Barboyr & Allen, 1922)	Big Pine Key, Florida, EE.UU
7	<i>O. v. couesi</i> (Coues y Yarrow, 1875)	Rancho Santuario, el noroeste de Durango, México
8	<i>O. v. curassavicus</i> (Hummelinck, 1940)	Isla de Curazao, Venezuela
9	<i>O. v. dacotensis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Río Tierra Blanca, Mountrail, Dakota del Norte, EE.UU
10	<i>O. v. goudotti</i> (Gay & Gervais, 1846)	Andes montañosos de Colombia y Venezuela
11	<i>O. v. gymnotis</i> (Wiegmann, 1833)	Guayana Británica, llanos de Colombia y Venezuela
12	<i>O. v. hiltonensis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Condado de Beaufort, Carolina del Sur, EE.UU
13	<i>O. v. leucurus</i> (Douglas, 1829)	Los distritos adyacentes del río Columbia, EE.UU
14	<i>O. v. macrourus</i> (Rafinesque, 1817)	Mer Rouge, condado de Morehouse, Luisiana, EE.UU
15	<i>O. v. mcilhennyi</i> F. W. (Miller, 1928)	Isla de Avery, Iberia Parish, Louisiana, EE.UU
16	<i>O. v. margaritae</i> (Osgood, 1910)	Isla Margarita, Venezuela
17	<i>O. v. mexicanus</i> (Gmelin, 1788)	Valle de México, México
18	<i>O. v. miquihuanensis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Suroeste de Tamaulipas, México
19	<i>O. v. nelsoni</i> (Merriam, 1898)	San Cristóbal, tierras altas de Chiapas, México
20	<i>O. v. nigribarbis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Condado de McIntoch, Georgia, EE.UU
21	<i>O. v. Oaxacensis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Oeste de Oaxaca, México
22	<i>O. v. ochrourus</i> (Bailey, 1932)	Coolin, extremo sur de Priest Lake, Idaho, EE.UU
23	<i>O. v. Osceola</i> (Bangs, 1896)	Citronelle, el condado de Citrus, Florida,
24	<i>O. v. peruvianus</i> (Gray, 1874)	Ceuchupate, Perú
25	<i>O. v. rothschildi</i> (Thomas, 1902)	Isla de Coiba, Veraguas, Panamá
26	<i>O. v. seminolus</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Condado de Collier, Florida, EE.UU
27	<i>O. v. sinaloae</i> (Allen, 1903)	Escuinapa, sur de Sinaloa, México
28	<i>O. v. taurinsulae</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Condado de Charleston, Carolina del Sur, EE.UU.
29	<i>O. v. texanus</i> (Mearns, 1898)	Fortaleza Clark, el Condado de Kinney, Texas, EE.UU.
30	<i>O. v. thomasi</i> (Merriam, 1898)	Huehuetan, Chiapas, México
31	<i>O. v. toltecus</i> (Saussure, 1860)	Orizaba, Veracruz, México
32	<i>O. v. tropicalis</i> (Cabrera, 1918)	La María, en el Valle del Dagua, Colombia
33	<i>O. v. nemoralis</i> (Hamilton-Smith, 1827)	América Central, Golfo de México a Surinam
34	<i>O. v. ustus</i> (Trouessart, 1910)	El Pelado, norte de Quito (4.100 m), sur de Colombia
35	<i>O. v. venatorius</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Condado de Beufort, Carolina del Sur, EE.UU.
36	<i>O. v. veraecrucis</i> (Goldman y Kellogg, 1940)	Chijol, el norte de Veracruz, México
37	<i>O. v. virginiana</i> (Zimmermann, 1780)	Wisconsin, EE.UU
38	<i>O. v. yucatanensis</i> (Hays, 1872)	Yucatán y el sur de México

Fuente: Adaptado de Gallina *et al.*, (2010); Guano, (2016) y Hewitt, (2011)

3.3 REPRODUCCIÓN DEL VENADO COLA BLANCA

3.3.1 Fisiología reproductiva del macho

El Venado Cola Blanca es una especie poliéstrica estacional. En las zonas templadas la reproducción ocurre durante una estación del año y está controlada por el fotoperiodo. Esta característica cambia conforme las poblaciones se distribuyen en zonas templadas cálidas o tropicales, siendo en este último caso, menos marcada la estacionalidad y está más relacionada con el crecimiento y disponibilidad de alimento que del fotoperiodos **(S. Juarez,2012)**, Sin embargo, debido a su amplia distribución, la estacionalidad de esta especie es sumamente flexible y está relacionada con la latitud **Arenas, P. (2011)**.

En cuanto al ciclo reproductivo del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*), inicia con la caída del terciopelo termina en promedio a finales de Abril o inicios de Mayo. El cortejo o empadre puede ocurrir desde la limpieza de las astas hasta mediados de Junio (inicios de Julio) lo que significa que las crías estarán naciendo desde inicios de Diciembre hasta probablemente avanzado Enero. Cuando las condiciones climáticas varían, como por ejemplo cuando se presentan sequías (a veces muy severas) este calendario se altera, pero aún no se cuenta con información validada acerca de la magnitud de los adelantos o atrasos **(Club de Caza Pesca y Turismo, 2010)**.



Figura 2 Ciclo reproductivo del Venado Cola Blanca.

Fuente: Adaptado de (S. Juárez, 2012)

Los ciclos endócrinos de secreción hormonal en los venados han sido identificados como indicadores directos de la actividad reproductiva. Los cambios morfológicos y de comportamiento tanto en hembras y machos en el Venado Cola Blanca y de otras especies, están directamente relacionados a los niveles séricos de gonadotropinas (estrógenos y progesteronas, testosterona y otras hormonas androgénicas respectivamente). La melatonina constituye la hormona “maestra” que controla la actividad del reloj biológico de la reproducción en el Venado Cola Blanca **(S. Juárez, 2012)**, Los machos alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los 1.5 años de edad, la aparición de la pubertad se ve reflejada por el estado fisiológico, el cual está influenciado por la nutrición y alimentación **(Smith, 1991)**.

3.3.2 Anatomía reproductiva del macho

La anatomía reproductiva de un mamífero macho, está formado por testículos, próstata, pene, uretra, los órganos sexuales secundarios, que están compuestos por la vía seminal de los espermatozoides para la maduración y transporte, además, están compuestos por un grupo de glándulas accesorias y por los genitales externos, que permiten el apareamiento con hembras durante el estro.

3.3.2.1 Testículos.

(S. Juárez, 2012), Los testículos tienen dos funciones básicas: 1) producir y secretar la testosterona e inhibina y 2) producir espermatozoides a través de la espermatogénesis. Para que los espermatozoides se produzcan se deben cumplir antes tres eventos endócrinos: a) secreción adecuada de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH); b) la secreción de la hormona luteinizante (LH) y la folículo estimulante (FSH) por la pituitaria anterior y c) secreción de los esteroides gonadales (testosterona y estrógenos).

3.3.2.2 El epidídimo

El epidídimo está constituido por un conducto único arrollado por el tejido conectivo que se introduce entre las fluctuaciones del mismo y por la túnica que envuelve el conjunto. Las cuatro funciones principales del epidídimo son el transporte de espermatozoides, el desarrollo de la motilidad de los espermatozoides, el desarrollo de la capacidad fertilizante de los espermatozoides y la creación de un ambiente luminal especializado y propicio para el proceso de maduración a través de las actividades de absorción y secreción del epitelio epididimario **(Robaire et al., 2006)**. El epidídimo se divide en tres zonas: cabeza proximal, cuerpo intermedio y cola distal. La cabeza del epidídimo que está firmemente unida con los testículos, ingresan los conductillos eferentes del testículo para reunirse en el conducto del

epidídimo. El conducto densamente contorneado, forma en primer lugar el cuerpo del epidídimo, está situado en posición caudal o dorsal con respecto al contorno longitudinal medial del testículo.

3.3.2.3 Glándula Vesicular

La glándula vesicular es una de las glándulas genitales accesorias, que está presente en todos los mamíferos domésticos macho (excepto en perros y gatos). En los rumiantes y en el caballo el conducto excretor de esta glándula se une un poco antes de su desembocadura con el conducto deferente para formar el conducto eyaculador.

3.3.2.4 Próstata

Está situada sobre el cuello de la vejiga y el nacimiento de la uretra, a la que se abre mediante varios conductos excretores. La secreción prostática contiene fosfatasas ácidas, prótidos, lípidos y hexosas. La activación de los espermatozoides y el aumento de su motilidad por medio de la secreción prostática dependen de varias enzimas mucolíticas y de otras, unas no muy bien identificadas que permiten el mantenimiento de la viabilidad de los espermatozoides. La próstata es una glándula genital accesoria presente en todos los mamíferos macho, formada por un segmento situado en la pared pélvica de la uretra, y un segundo segmento, ubicado exteriormente a la uretra.

3.3.2.5 Pene

El pene es el órgano masculino de la copula y comprende tres partes diferentes: el glande (extremo libre), el cuerpo intermedio (contiene los cuerpos cavernosos) y las raíces insertadas en el arco esquelético de la pelvis. El pene se origina con dos pilares en el arco isquiático, los dos pilares del pene se unen y junto con el bulbo del pene forman la raíz del pene, en cuyo extremo se encuentra el glande, el pene

sigue un trayecto craneal, adosado a la pared ventral del abdomen, para finalizar caudalmente con respecto al ombligo.

3.4 MÉTODOS DE COLECCIÓN SEMINAL EN VENADOS

La obtención de semen, en la mayoría de los casos, tiene el propósito de ser evaluado y utilizado en la reproducción asistida de las especies, y para la selección de sementales por su potencial reproductivo. Existen varias técnicas para la obtención de semen por eyaculación en pequeños rumiantes, siendo las más empleadas: vagina artificial (VA), por electroeyaculación, y la colecta post-coital. Sin embargo, en especies silvestres como los cérvidos, las técnicas de recuperación seminal se restringe a la electroeyaculación (**Arenas, P. 2011; Santiago, D. 2012**) y a la colección seminal postmortem (**Esteso et al., 2006; Martinez-Pastor, 2004; Peña, 2013; Soler et al., 2005; Velazquéz, 2011**).

3.4.1 Colección seminal postmortem

La colección seminal postmortem es una técnica reciente y que su aplicación como método de colección seminal se está generalizada en animales silvestres como el Venado Cola Blanca **Arenas, P. (2011)**, ya que es una especie cinegética, de tal modo que después de su muerte se extraen los testículos conjuntamente con la envoltura escrotal, se ligan sus comunicaciones respectivas con los conductos deferentes y uretra y se mantienen en refrigeración (5°C) hasta su posterior recuperación del contenido seminal. El mayor inconveniente es la recolección del eyaculado incompleto por ausencia de secreciones de las glándulas accesorias (**Martinez-Pastor, 2004**).

La mejor fuente de gametos masculinos en muestras postmortem, en caso de poder optar a ella, es la cola del epidídimo (**Martinez-Pastor, 2004**). El epidídimo es un tubo largo y contorneado que conecta los vasos eferentes, a la salida del testículo,

con el conducto deferente. Su función es sumamente importante, ya que los espermatozoides sufren un proceso de maduración durante el trayecto epididimario. Aunque nos encontramos con una limitada funcionalidad a la salida del testículo, en la cola del epidídimo los espermatozoides son casi equivalentes a los del eyaculado, aunque no hayan completado su evolución funcional y morfológica (**Robaire et al., 2006**).

Martínez-Pastor et al., (2005) en trabajos realizados en venados rojo ibérico concluyen, que la motilidad es el parámetro que más se ve afectado en la evaluación de los espermatozoides provenientes de la cola del epidídimo, conforme aumenta gradualmente el tiempo postmortem. Sin embargo el mismo autor (**Martínez-Pastor, 2004**) en un estudio realizado en espermatozoides epididimario del ciervo rojo ibérico (*Cervus elaphus hispanicus*), comparó dos métodos de recuperación del espermatozoide de la cola del epidídimo (por lavado y por cortes del epidídimo), quien recomienda la recuperación del espermatozoide por el lavado del conducto epididimario, ya que muestra menor contaminación y mejor calidad espermática.

3.4.2. Colección seminal por electroeyaculación

(**Velazquéz, 2011**), En animales no acostumbrados al manejo humano es necesario recurrir a la obtención de semen mediante técnicas de electroeyaculación bajo anestesia. Esta técnica es segura, con riesgos mínimos, y se ha empleado ya en muchas especies animales. Con ungulados no se ha encontrado inconveniente alguno y se ha utilizado en forma reiterada sobre los mismos machos sin consecuencias negativas, lo cual es importante ya que interesa realizar recolecciones repetidas de cada macho con el fin de conservar un elevado número de muestras para su utilización futura.

(Arenas, P. 2011), Para la obtención del semen en venados, se ha utilizado electroeyaculadores con polos de anillos como los que se emplean en ovinos y caprinos. Hay reportes que con un voltaje de 75 a 200 milivolts se puede obtener la eyaculación en un venado. Para la obtención de semen de venado, empleando un electroeyaculador, éste debe ser inmovilizado con la inyección de mezclas de sustancias como la Xilacina con Ketamina.

Cuadro N° 3 Métodos de colección de semen en cérvidos por autores.

Método		Especie	Referencia
Colección postmortem	seminal	Ciervo rojo ibérico (<i>Cervus elaphus hispanicus</i>)	Martinez-Pastor, (2004) Martínez-Pastor et al., (2005)
Colección postmortem	seminal	Ciervo rojo ibérico (<i>Cervus elaphus hispanicus</i>)	Soler et al., (2005)
Colección postmortem	seminal	Venado Cola Blanca (<i>Odocoileus Virginianus couesi</i>)	Velazquéz, (2011)
Colección postmortem	seminal	Ciervo rojo ibérico (<i>Cervus elaphus hispanicus</i>)	Peña, (2013)
Colección postmortem	seminal	Ciervo rojo ibérico (<i>Cervus elaphus hispanicus</i>)	Esteso et al., (2006)
Colección postmortem	seminal	Taruka (<i>Hippocamelus antisensis</i>)	Quispirimachi, (2014)
Electroeyaculación (EE)		Venado Cola Blanca (<i>Odocoileus Virginianus</i>)	Santiago, (2012)
Electroeyaculación (EE)		Venado Cola Blanca (<i>Odocoileus miquihuanensis</i>)	<i>Virginianus</i> Arenas, (2011)

Fuente: Elaboración propia

3.5 TÉCNICAS DE VALORACIÓN SEMINAL Y CALIDAD ESPERMÁTICA

La valoración del semen se realiza inmediatamente después de la colección (electroeyaculación o postmortem), el cual comprende una valoración macroscópica visual del aspecto del eyaculado y del volumen. Procediendo con la valoración microscópica subjetiva de la motilidad del esperma, la morfología de los espermatozoides con defectos obvios, como una medida indirecta de la viabilidad y la normalidad espermática, que se debe de realizar antes de su procesamiento (Lavara et al., 2003). Según varios autores (Brun et al., 2002; Castellini & Lattaioli, 1999) la evaluación de semen debe proporcionar información sobre la capacidad fecundante del espermatozoide. Dentro de los parámetros más importantes relacionados con la fertilidad está el número de espermatozoides

inseminados y la motilidad. Sin embargo estas características seminales se ven afectados por muchos factores (raza, alimentación, estado de salud, condición de crianza, la estación y la frecuencia de colección), generando variabilidad en las características seminales evaluados **(Alvariño, 2000)**.

El espermograma clásico se centra en vigilar eyaculados con porcentajes de motilidad superiores al 70%, normalidad acrosómica superior al 80%, gota citoplasmática inferior al 10% y espermatozoides anormales inferior al 15%. El espermograma clásico comprende técnicas de análisis macroscópicos (volumen, color y apariencia), y microscópicos (motilidad, viabilidad, concentración, morfología, reacción acrosómica, test de endosmosis) los cuales se pueden evaluar en muestras frescas o fijadas, dependiendo del parámetro seminal a valorar **(Rodríguez,M. 2016)**.

Lavara, (2013), clasifica la evaluación seminal en características de cantidad (volumen y concentración) y calidad espermática (motilidad, vitalidad, morfología y morfometría, test de endosmosis, estado acrosomal, índice de fragmentación).

3.5.1 Características de cantidad y producción seminal

(Lavara et al., 2011), Dentro de las características de cantidad y producción seminal se incluyen el volumen seminal (ml), concentración espermática (10^6 spz/ml) y producción espermática (10^6 spz/eyaculado), el volumen seminal y la concentración espermática definen la producción espermática, y por lo tanto la cantidad de dosis a obtener de la muestras de semen colectados **(Lavara et al.,2011)**.

3.5.2 Características de calidad espermática.

La evaluación de los parámetros de calidad espermática es un procedimiento indispensable que tiene que ser incluido en el espermograma clásico, ya que estos

parámetros nos aproximan a predecir la capacidad fecundante del espermatozoide y por lo tanto del macho (**Lavara et al., 2013; Quintero-Moreno, 2003**). Las características de calidad espermática incluyen motilidad (% de motiles progresivos), vitalidad (% de spz vivos/muertos), morfología (% de spz normales), morfometría (contempla distintas variables de la cabeza del spz), test de endosmosis (% de spz con cola enrollada) e índice de fragmentación espermática (% de spz con fragmentación espermática). En espermiogramas cotidianos las características que definen la calidad espermática es la motilidad y la vitalidad espermática (**Lavara et al., 2012**).

3.5.2.1 Motilidad

La motilidad es una condición indispensable para que las células espermáticas sean capaces de atravesar el moco cervical y llegar al sitio de fecundación, siendo finalmente necesaria la presencia de movimientos vigorosos del flagelo para que el espermatozoide pueda penetrar en la zona pelúcida del ovocito, de ahí que la motilidad sea una de las características más importantes para determinar la calidad del esperma (**Brugo.Santiago et al., 1995**). Los espermatozoides de los mamíferos constan básicamente de dos partes con distintas funciones (cabeza y cola). La cabeza contiene el material genético (ADN) y el acrosoma, que cubre los dos tercios anteriores de la cabeza. La cola a su vez se divide en tres segmentos: la parte intermedia, principal y terminal. La cola es el mecanismo cinético del espermatozoide, y su función es la de otorgar flexibilidad, dirección y la energía necesaria para el movimiento **Mortimer,S. (2000)**.

La motilidad de los espermatozoides está ligada al metabolismo energético y la capacidad de movilización de las reservas energéticas. Por ello, la valoración del semen ha de ser efectuado lo más rápido posible tras su recuperación, teniendo en

cuenta de que todo el material usado debe de estar en condiciones de normocinesis (temperatura de 37°C). Adicionalmente, se pueden evaluar la motilidad individual del espermatozoide, donde varias técnicas han sido desarrolladas, siendo los sistemas conocidos como analizadores de semen asistido por ordenador (CASA=Computer Assisted Sperm Analysis) realizan un análisis automático de imágenes digitales. Además incluyen nuevos parámetros cinéticos del movimiento espermático como: velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad media (VAP), índice de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR), índice de oscilación (WOB), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH), frecuencia de batida de la cabeza (BCF) (ver figura 3) . De esta manera se reduce la variabilidad del efecto humano en las estimas del porcentaje de los espermatozoides móviles y se predice mejor su capacidad fecundante.

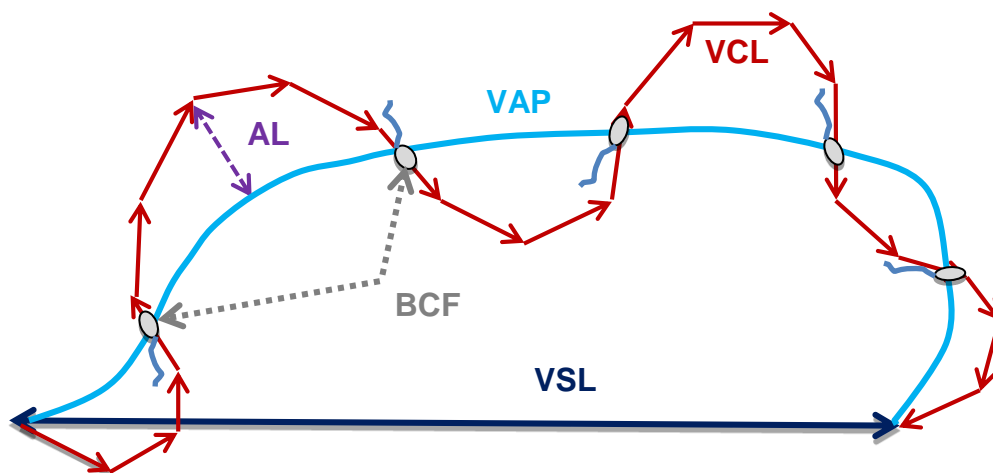


Figura 3. Parámetros cinéticos de motilidad obtenidos por el sistema CASA
Fuente: Rodriguez,M. (2016)

No se tienen reportes sobre la motilidad espermática en el Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*), pero si hay reportes sobre la motilidad espermática en ciervos ibéricos, que se muestran el cuadro 4.

Cuadro N° 4 Parámetro de la cinética del espermatozoide epididimario del ciervo rojo

Parámetro		Media ± Desviación estándar	Rango
Velocidad (µm/s)	Curvilínea-VCL	111,9 ± 19,6	67,1 – 170,9
Velocidad (µm/s)	Rectilínea-VSL	69,2 ± 19,2	14,7 – 140,2
Velocidad Media-VAP (µm/s)		82,3 ± 20,7	27,7 – 155,7
Índice de Linealidad-LIN (%)		62,2 ± 10,2	22,2 – 86,0
Índice de Rectitud-STR (%)		81,4 ± 7,7	45,3 – 94,7
Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide-ALH (µm)		3,8 ± 0,7	2,5 – 7,0
Frecuencia de Batida de la Cabeza-BCF (Hz)		13,2 ± 1,2	10,4 – 22,0

Fuente: Peña, (2013)

3.5.2.2 Integridad de la membrana plasmática del espermatozoide (vitalidad)

La prueba de vitalidad se utiliza para determinar la presencia de espermatozoides vivos, diferenciándolos de los muertos. Dentro de las pruebas de la vitalidad se incluyen la evaluación de la integridad de la membrana plasmática, los test de endosmosis y test de resistencia térmica. La evaluación de la vitalidad espermática normalmente se basa en el análisis de la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides, debido a que la membrana del espermatozoide juega un papel importante durante todos el proceso de la fecundación (durante la capacitación, reacción acrosómica y unión del espermatozoide a la superficie del óvulo), por ello es importante que esté intacta y funcionalmente activa y puede ser

un indicador útil de la capacidad fecundante de espermatozoide (**Jeyendran et al., 1984**).

Dicho análisis se realiza mediante el uso de tinciones u fluorocromos combinados que son evaluados en microscopio de campo claro o el uso de microscopio de fluorescencia respectivamente. Dentro de la combinación de fluorocromos, uno de ellos sólo es capaz de atravesar las membranas plasmáticas dañadas o degeneradas, y por tanto, permite identificar la células muertas o en proceso de degeneración, mientras que el otro es capaz de atravesar todas las membranas y por tanto permite identificar la población de células viables. La combinación más común de fluorocromos utilizados para las evaluaciones de integridad de la membrana es el SYBR-14 y el Ioduro de Propidio (PI). En esta doble tinción, el ADN de espermatozoides viables emiten fluorescencia verde, mientras que aquellos con membrana plasmática dañada (muerta) emite fluorescencia roja. Este procedimiento ha sido aplicado con éxito en diferentes especies de ganado (**Garner & Johnson, 1995**).

3.5.2.3 Morfología y morfometría espermática

Además de poseer motilidad, concentración y viabilidad aceptable, los espermatozoides han de ser morfológicamente normales. La morfología de los espermatozoides refleja la salud de los túbulos seminíferos y en cierto grado del epidídimo. La morfología espermática aceptable, donde la fertilidad no se ve afectada, es alrededor del 20% a 25% de anormalidades o que más del 70% de los espermatozoides posean morfología normal (**Gravance et al., 1998**). Las anormalidades morfológicas de los espermatozoides pueden ser primarias (debido a fallas en la espermatogénesis); Secundarias (ocurren durante el paso de los

espermatozoides por el epidídimo) y Terciaria (durante o después de la eyaculación, y por el manejo inadecuado de la muestra).

Cualquier morfoanomalía (primaria o secundaria), si afecta a un número elevado de espermatozoides, puede llegar a comprometer la fertilidad del semen. Por ejemplo, si una dosis seminal tiene una motilidad espermática del 50%, y 30% de espermatozoides con gota citoplasmática proximal **Martin, S. (1990)**, esta alta incidencia de morfoanomalía repercutirá negativamente en la fertilidad, pese a la buena motilidad del eyaculado. La valoración del número de espermatozoides con morfoanomalías en un espermiograma cotidiano se debe de realizar de las morfoanomalías más frecuentes y fácilmente observables como: cabezas sueltas, colas enrolladas, gota citoplasmática proximal, macrocéfalos, microcéfalos, doble cabeza y doble cola. Se pueden evaluar en muestras fijadas (con glutaraldehído o formaldehído) mediante microscopio de contraste de fases positivo o de contraste diferencial de interferencia.

La morfometría espermática es un análisis objetivo de la morfología de la cabeza del espermatozoide y puede abarcar a la pieza intermedia del espermatozoide, en la que se utilizan programas informáticos como el CASA. Estos sistemas computarizados permiten estimar la forma del espermatozoide (cabeza), derivando una serie de nuevos parámetros que se muestra en el cuadro 5. Sin embargo es necesario establecer los protocolos y condiciones óptimas de evaluación de las muestras (como tipo de tinción utilizado), para poder disminuir las variaciones de los resultados obtenidos.

Cuadro N° 5 Parámetros de morfometría espermática.

Cabeza	Pieza intermedia (P.I)	Forma de la cabeza/fórmula
Largo (L) (μm)	Nivel De Gris (%)	Elipticidad .1.1 L/W
Ancho (W) (μm)	Anchura de la P.I	Rugosidad $4\pi A/P^2$
Área (A) (μm^2)	Área De la P.I	Elongación $(L-W)/(L+W)$
Perímetro (P) (μm)	Distancia de inserción de la P.I.	Regularidad $\pi LW/4A$
% de Acrosoma	Ángulo de Inserción de la P.I	

Fuente: Adaptado de Soler *et al.*, (2005)

La evaluación de la morfometría espermática es una parte esencial dentro del espermiograma cotidiano en especies como ciervos rojo ibérico (**Esteso et al., 2006; Soler et al., 2005**), tarukas (**Quispirimachi, 2014**), llamas (**Casaretto et al., 2011; Rodriguez, M. 2014**), alpacas (**Buendia et al., 2002**), cabras (**Gravance et al., 1995**), ovinos (**Gravance et al., 1998; Yániz et al., 2012**), cerdos (**Kondracki et al., 2005**) y Venados Cola Blanca (**Meisner et al., 2005**) (Ver cuadro 6), ya que una disminución en el porcentaje de espermatozoides normales esta correlacionado con una disminución de la fertilidad del reproductor.

Cuadro N° 6 Morfométrica de la cabeza del espermatozoide de diferentes especies

Autor	Especies	Área (µm²)	Largo (µm)	Ancho (µm)	Perímetro (µm)
Meisner et al., (2005)	Venado Cola Blanca		5,6 – 7,0	2,8 – 3,6	
Soler et al., (2005)	Ciervo rojo	32,6 ± 2,40	8,2 ± 0,44	4,7 ± 0,26	22,8 ± 0,90
Quispirimachi, (2014)	Taruka	23,5 ± 2,33	7,2 ± 0,49	3,9 ± 0,27	22,7 ± 1,99

Fuente: Elaboración propia

3.6 SISTEMAS COMPUTARIZADOS PARA EL ANÁLISIS ESPERMÁTICO

La motilidad, Vitalidad, Morfología y Morfometría espermática, que anteriormente se evaluaban de una manera subjetiva, actualmente se puede realizar mediante el uso de equipos computarizados de análisis espermático llamado equipos CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), la implementación de estos métodos informáticos atenúan en gran parte el factor subjetivo del análisis seminal y garantiza una mejor correlación con la capacidad fecundante del espermatozoide.

Quintero-Moreno, (2003), indica que los sistemas computarizados de análisis espermático están en el mercado desde hace décadas, menciona a **Dott y Foster, (1979)**, quienes fueron los primeros en proponer los sistemas CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), estos sistemas se basan en la toma de fotografías sucesivas y medición de imágenes, donde se pueden evaluar los parámetros seminales: Motilidad, Concentración, Morfología, Morfometría, Vitalidad y determinar los Índices de Fragmentación del ADN Espermático. También menciona a **Mortimer,S. (2000)**, quien señala que los sistemas CASA establecen de una

manera efectiva medidas cuantitativas del espermatozoide de forma individual y conjunta; con este tipo de análisis se obtiene medidas correctas y predictivas de las características seminales. Actualmente existen varios tipos de CASA en el mercado que realizan análisis de semen en tiempo real; uno de ellos es el ISAS CASA con más de 25 años en el mercado el cual posee un software completo de análisis de semen. Estos sistemas CASA cuentan con varios módulos de análisis espermático (módulo de motilidad, concentración, morfometría, vitalidad y fragmentación del ADN espermático).

3.6.1 Características seminales que evalúa el ISAS

3.6.1.1 Motilidad y concentración espermática

(Mortimer,S. 2000), varias técnicas han sido desarrolladas para valorar la motilidad individual. Los sistemas conocidos como analizadores de semen asistido por ordenador (CASA) han sido desarrollados utilizando análisis automático de imágenes digitales. Además incluyen nuevos parámetros cinéticos del movimiento espermático (ver cuadro 7). De esta manera se reduce la variabilidad del efecto humano en las estimas del porcentaje de los espermatozoides móviles y se predice mejor su capacidad fecundante **(Mortimer,S. 2000)**.

(Verstegen,J. et al., 2002), Los resultados finales de los sistema CASA dependen de distintos factores como: la temperatura del semen, el volumen analizado, el tipo de cámara utilizada en la medición, el tiempo entre la recogida y el análisis, la concentración espermática, el diluyente utilizado, el objetivo y la iluminación del microscopio, el área de las partículas analizadas y valores propios de ajuste del sistema CASA.

El módulo de motilidad del ISAS realiza un análisis automático de la motilidad y la concentración espermática en tiempo real; además el sistema ofrece una amplia gama de parámetros cinéticos.

Cuadro N° 7 Parámetros de motilidad espermática que evalúa el ISAS

Parámetro	Unidad	Descripción
Según el tipo de motilidad del espermatozoide		
Estáticos	%	Son todos los espermatozoides que no muestran movimiento alguno
Móviles no progresivos	%	Son todos los espermatozoides que muestran movimiento pero no es progresivo
Móviles progresivos	%	Son todos los espermatozoides que muestran movimiento progresivo
Velocidades		
Velocidad Curvilínea (VCL)	$\mu\text{m/s}$	Distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de su trayectoria real en función del tiempo
Velocidad Rectilínea (VSL)	$\mu\text{m/s}$	Distancia recorrida por el espermatozoide del primer punto al último punto de su trayectoria
Velocidad Media (VAP)	$\mu\text{m/s}$	Distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de su trayectoria media
Ratios		
Índice de Linealidad (LIN)	%	Relación porcentual $\text{LIN} = \text{VSL}/\text{VCL} * 100$
Índice de Rectitud (STR)	%	Relación porcentual $\text{STR} = \text{VSL}/\text{VAP} * 100$
Índice de Oscilación (WOB)	%	Relación porcentual $\text{WOB} = \text{VAP}/\text{VCL} * 100$
Otros parámetros		
Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALH)	μm	Desplazamiento efectuado por la cabeza del espermatozoide en su trayectoria curvilínea de un lado a otro de la trayectoria media o lineal
Frecuencia de Batida de la Cabeza (BCF)	Hz	Frecuencia con la cual la trayectoria curvilínea atraviesa la lineal en función del tiempo

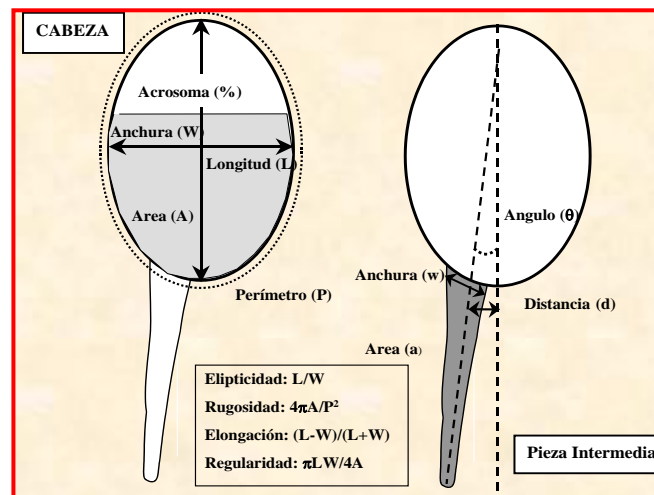
Fuente: Adaptado de Quintero-Moreno, (2003)

3.6.1.2 Morfología y morfometría espermática

Soler et al., (2005), indican que el módulo de morfometría del ISAS realiza un análisis automático de la morfología y la morfometría espermática a partir de muestras teñidas; además el análisis morfométrica que realiza el sistema integrado de análisis espermático (ISAS=Integrated Sperm Analysis System) aporta un total

de 14 parámetros como: tamaño (largo, ancho, perímetro y área) y forma de la cabeza (Elipticidad, elongación, rugosidad, y regularidad), porcentaje del acrosoma, nivel de color de la cabeza, tamaño (área y ancho) e inserción de la pieza intermedia (ángulo y distancia), como se muestra en la figura 4.

Figura N° 4 Parámetros de evaluación de la morfometría del espermatozoide



Fuente: Soler et al., (2005)

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 DEL LUGAR DE ESTUDIO

4.1.1 Ubicación Geográfica

El trabajo de investigación se realizó entre Junio a Noviembre del 2016, en (CICAS) “La Raya”, de la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), situado en el Distrito de Marangani, Provincia de Canchis, Departamento de Cusco.



Foto N° 2 Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) “La Raya”

4.2 MATERIALES Y EQUIPOS

4.2.1 Animales y materiales para la colección de semen

- Venado Cola Blanca macho (02).
- Jeringas de 1, 10 y 20 ml
- Equipo de cirugía menor
- Papel toalla.
- Tubos eppendorf.
- Guantes quirúrgicos.

4.2.2 Materiales, reactivos y equipos de laboratorio

- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Vernier.
- Placas de Petri.
- Micropipeta de 0,5 - 10 μl y de 10-100 μl .
- Tips de 0,5-10 μl y 10-100 μl .
- Balanza analítica de precisión.
- Aceite de inmersión
- Alcohol isopropílico
- Alcohol de 70°
- Tinción Hemacolor



Foto N° 3 Materiales de laboratorio para la colección y evaluación seminal

4.2.3 Equipos de laboratorio

- Microscopio de contraste de fases UB200i con cámara, platina caliente y fluorescencia.
- Computadora con software ISAS v 1.1
- Software Statgraphics Centurión XVI
- Laptop
- Cámara digital y otros.

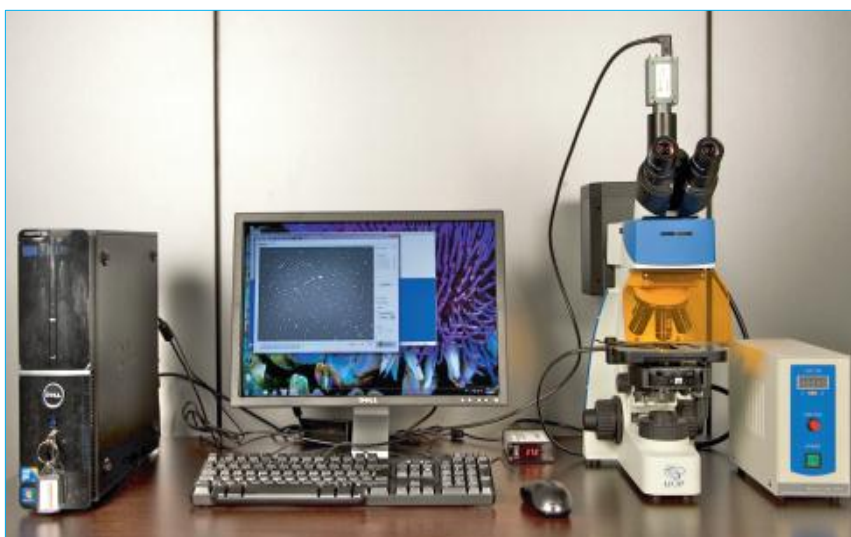


Foto N° 4 Equipo Integrated Sperm Analysis System (ISAS) v 1.1; microscopio de contraste de fases UB200i con cámara, platina caliente y fluorescencia.

4.3 DEL LABORATORIO

Las evaluaciones se realizaron en el “Laboratorio de Fibras y Semen”, de la Escuela Profesional de Zootecnia, en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) “La Raya” el cual cuenta con el equipo Integrated Semen Analysis System (ISAS) y todo el material necesario para evaluar la morfometría espermática.

4.4 VARIABLES DE LA INVESTIGACION: el estudio es de tipo descriptivo. Por lo que solamente existen variables de estudio los que vendrían a ser: motilidad, Ph, motilidad, concentración espermática. Largo y ancho de la cabeza del espermatozoide y las variables de la morfometría del espermatozoide.

4.5 METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

4.5.1 Colección de muestras (Gónadas)

Las muestras de gónadas (testículos) se obtuvieron de dos Venados Cola Blanca provenientes de decomisos con proceso administrativo sancionador concluidos, realizado por las Administraciones Técnicas Forestales y de Fauna Silvestre (ATFFS), en el ámbito de la región Cusco. Para tal fin se solicitó la autorización al Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre, quienes emitieron la resolución **N° 235-2015-SERFOR/DGGSPFFS (Anexo 1.)**, autorizando la investigación en el Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*), procedentes de decomisos y caza deportiva. Las edades de los venados eran 2 años (2 dientes) y 4 años (4 dientes) aproximadamente.



Foto N° 5 Cronometría dentaria de venado de cola blanca

Las muestras de las gónadas se obtuvieron en Paruro (venado de 2D) y Quispicanchi (Venado de 4D). Las gónadas (derecha e izquierda) fueron separadas

del cuerpo de los venados a partir de una incisión realizada a nivel inguinal. Los testículos se transportaron, aún con las envolturas escrotales, manteniéndose a temperatura corporal en un cooler termoaislante, hasta el Laboratorio de fibras y semen del CICAS - La Raya. El intervalo de tiempo transcurrido desde la recogida de los testículos hasta la llegada al laboratorio osciló entre 3 y 5 horas.



Foto N° 6 Separación de las gónadas de venado de cola blanca

La extracción de los espermatozoides (Foto 5) se realizó en el laboratorio a temperatura ambiente. Para ello, se separaron mediante material quirúrgico todas las envolturas testiculares que recubren al testículo y al epidídimo, de acuerdo al procedimiento descrito por **Peña, (2013)**. Dichas estructuras, partiendo desde fuera hacia dentro son las siguientes: 1) Piel y tejido subcutáneo, 2) Fascia espermática externa, 3) Cremasterica interna y 4) Tunica Vaginalis y albumginea.

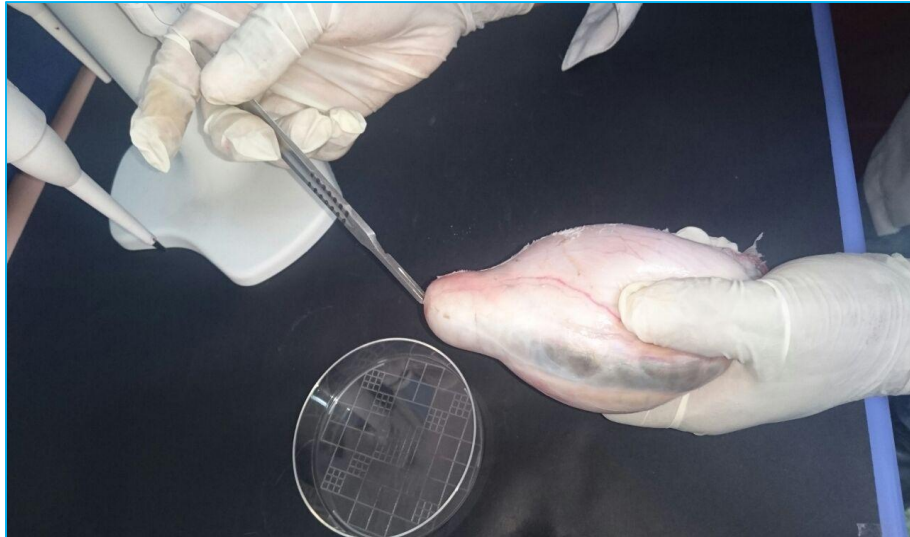


Foto N° 7 Extracción de las envolturas testiculares

4.5.2 Mensuración testicular postmortem

Se procedió a registrar algunos datos concernientes al proceso de investigación, donde se realizó el pesado y la mensuración de las dimensiones testiculares (largo y ancho testicular) de cada animal, para lo cual se utilizó una balanza de precisión y un vernier, como se muestra en la foto 6, todo el proceso de mensuración se realizó en condiciones de normocinesis, incluido el material quirúrgico empleado.



Foto N° 8 Mensuración del testículo del Venado Cola Blanca

4.5.3 Protocolo de colección seminal postmortem

Una vez en el laboratorio y realizado la mensuración pertinente de las gónadas, se separó con cuidado el túbulo semífero del epidídimo de los testículos en donde maduran los espermatozoides para luego proceder a realizar la colección de semen epididimario postmortem, para dicho fin se utilizó un dilutor base TRIS (hidroxi-metil aminometano) y un equipo de cirugía menor. Las muestras de semen epididimario postmortem se obtuvieron en una placa petri atemperada, para luego ser depositados en tubos eppendorf como se observa en la foto 7. Las muestras de semen de la cola del epidídimo se colectaron inmediatamente se llegó al laboratorio.



Foto N° 9 Colección seminal epididimario postmortem

Posteriormente, se procedió a realizar diversas incisiones con una hoja de bisturí sobre la cola del epidídimo, de acuerdo al procedimiento descrito **por Martínez-Pastor, (2004) y Soler et al., (2005)**, arrastrando con la misma hoja del bisturí el material espermático, para depositarlo en una placa petri, en la que previamente se había depositado 1 ml de diluyente a base TRIS (ver cuadro 9). Los espermatozoides recogidos de la cola del epidídimo son funcionalmente maduros y tiene una capacidad de fertilización similar a la de los espermatozoides de un eyaculado (**Robaire et al., 2006**).

Cuadro N° 8 Componentes del diluyente base TRIS (hidroxi-metil aminometano)

Componente	Cantidad	Unidad
TRIS	0,30	g
Ácido Cítrico	0,17	g
Fructosa	0,13	g
Agua Bidestilada	10	ml

Fuente: propia

4.6 Valoración de la producción seminal y calidad espermática

4.6.1 Análisis de las características de producción seminal

Inmediatamente después de la colección y dilución en TRIS de las muestras de semen epididimario postmortem del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*), se prosiguió con la evaluación del volumen y el color seminal (R. Ccoiso Aguila, 2019), estas características del semen colectado se realizaron a través del examen visual en tubos colectores graduados. A continuación, se separaron 5µl de semen diluido, para determinar la concentración espermática y motilidad en el equipo ISAS (los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 9), reservando el resto para realizar la evaluación de la calidad seminal (Morfometría espermática).

Cuadro N° 9 Valoración de la producción seminal del Venado Cola Blanca

Variables	Animal		PROMEDIO
	1 (2D)	2 (4D)	
Volumen seminal (ml)	2,0	2,5	2.25
Concentración espermática (10 ⁶ spz/ml)	48,6	60	54.3
Espermatozoides Móviles (%)	0,9	2,4	1.65%
pH seminal	5,8	5,9	5.85
Color seminal	Rosa pálido	Rosa pálido	Rosa palido

4.6.2 Análisis de la calidad - Morfometría espermática

La evaluación de la morfometría espermática se realizó en el módulo de Morfometría del ISAS, el cual hace un análisis automático de la morfología y morfometría espermática. Para lo cual se procedió a la tinción con el colorante Hemacolor, previo a esto se rotuló el portaobjeto, codificando a cada venado. A continuación se colocó en un extremo del portaobjetos 5 µl del semen homogenizado, seguidamente se esparció la muestra con la ayuda de un cubreobjetos, generando un frotis, el frotis se dejó secar por 30 minutos. Una vez

seco las láminas se procedieron a la tinción con Hemacolor, siguiendo el protocolo de tinción descrito por **Soler et al., (2005)**. El Kit de tinción Hemacolor contiene soluciones para la fijación y tinción del frotis de las muestras de espermatozoide. El cual se logra mediante la inmersión consecutiva del frotis en las diferentes soluciones que posee el kit de tinción Hemacolor (Solución de tinción I - solución fijadora, Solución de tinción II - reactivo de coloración rojo y Solución de tinción III - contiene verde rápido (0.002g/l) en metanol).

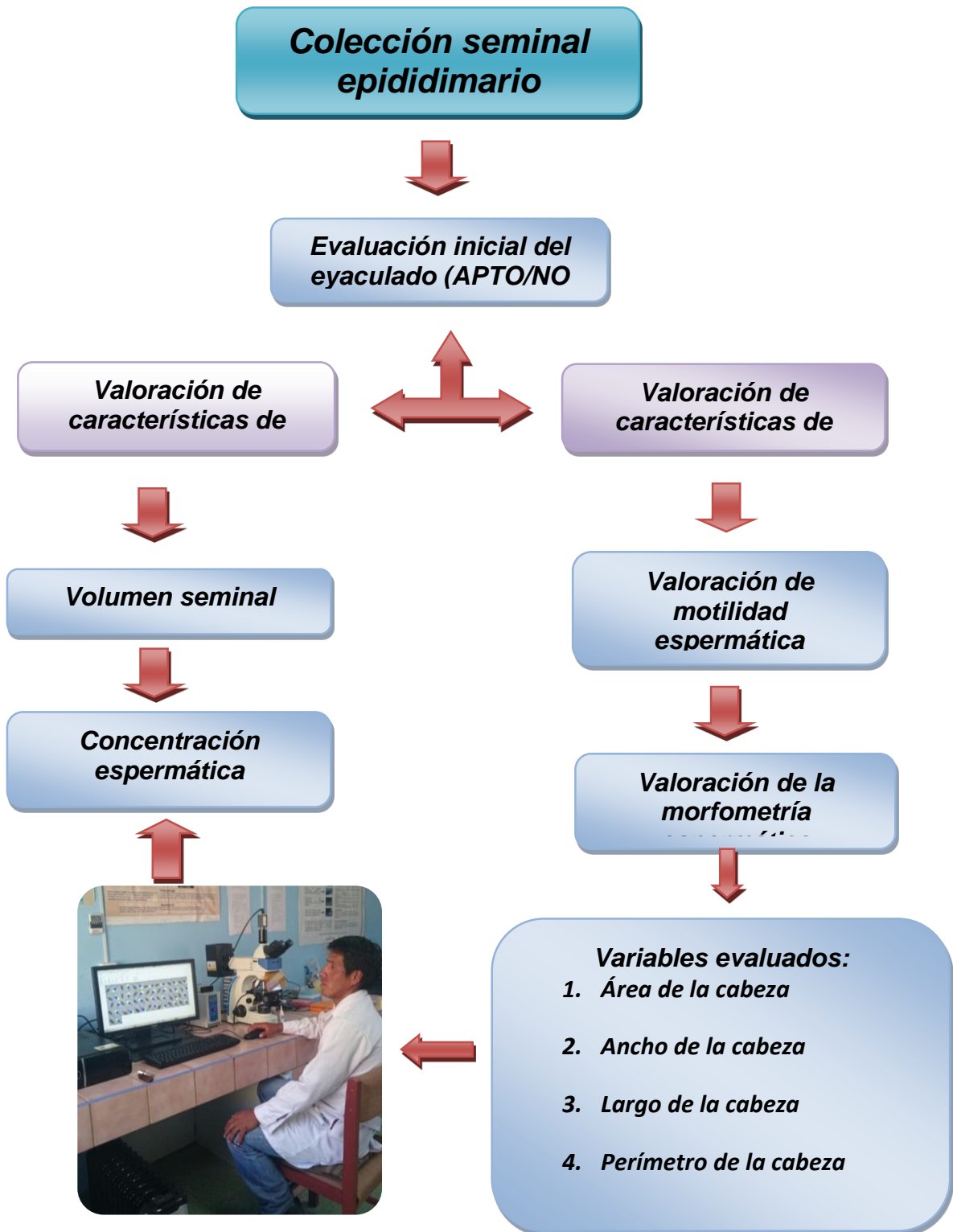
Protocolo de tinción:

1. Se sumergió 5 veces el portaobjeto con el frotis de semen preparado durante 1 segundo/inmersión en cada solución I (Solución fijadora), se dejó drenar el excedente después de cada inmersión.
2. Luego se sumergió 3 veces el portaobjeto durante 1 segundo/inmersión en solución de tinción II. Se dejó drenar el excedente después de cada inmersión.
3. Se sumergió 6 veces el portaobjeto por 1 segundo/inmersión en solución de tinción III.
4. Se dejó secar las láminas aproximadamente 30 minutos y luego se empezó inmediatamente con la lectura y evaluación de la morfología espermática en el ISAS.
5. La lectura de las láminas se realizó a un aumento de 100X más aceite de inmersión. Se procedió a la captura manual de los espermatozoides por animal evaluado, haciendo en total 2749 espermatozoides evaluados.

El módulo de Morfometría del ISAS, mide parámetros de morfometría espermática como: tamaño de la cabeza (área, perímetro, ancho, largo, porcentaje de

acrosoma), forma de la cabeza (elipticidad, rugosidad, regularidad y elongación), nivel de color de la cabeza, área de la pieza intermedia, anchura de la pieza intermedia, distancia de la inserción de la pieza intermedia y ángulo de inserción de la pieza intermedia.

Grafico N° 1 Flujoograma del protocolo de colección de semen postmortem en Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)



4.7 DISEÑO Y ANÁLISIS DE LOS ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS

El presente trabajo está enmarcado dentro del tipo de investigación descriptivo y exploratorio, porque descubre, analiza, explica la características de la morfometría espermática del semen colectado postmortem de la cola del epidídimo del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con el Sistema Integrado de Análisis Espermático (ISAS).

Una vez se tuvieron los datos sistematizados y ordenados, se procedió al análisis exploratorio de los datos, donde se observaron los outlier o datos atípicos de cada una de las variables de morfometría espermática de Venado Cola Blanca.

Los datos obtenidos de las variables de la morfometría espermática, fueron sometidos a la prueba de la normalidad, para ver si los datos se ajustaban a una distribución normal o no, observando la asimetría y curtosis. Se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurión XVI. Para interpretar los resultados se determinó las medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (desviación estándar, coeficiente de variación, mínimos y máximos).

CAPÍTULO V

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 CARACTERÍSTICAS DE LA MORFOMETRÍA ESPERMÁTICA DEL VENADO COLA BLANCA (*O. virginianus peruvianus*).

Los parámetros de morfometría espermática determinadas en este estudio fue para: tamaño de la cabeza del espermatozoide del Venado Cola Blanca (largo en μm ; ancho en μm ; área en μm^2 y perímetro en μm), y la forma de la cabeza (elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad). Todos estos parámetros se evaluaron en dos muestras de semen colectadas de la cola del epidídimo postmortem y en 2749 espermatozoides de Venado Cola Blanca.

Cuadro N° 10. Dimensiones testiculares del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)

Variables	Animal	
	1 (2D)	2 (4D)
Peso Corporal (Kg)	42,8	65,5
Peso testicular (g)	22,4	23,7
Largo testicular (cm)	6,2	6,8
Ancho testicular (cm)	2,5	2,9

El peso, largo y ancho testicular, obtenidos del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*) se muestran en el Cuadro 8.

5.1.1 EXAMEN MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE VENADO DE COLA BLANCA.

Se examinó volumen, pH, espermatozoides motiles, concentración espermática, tal como se muestra en el cuadro

Cuadro N° 11 examen macroscópico y microscópico de venado de cola blanca (*O. virginianus peruvianus*).

Variables	Animal	
	1 (2D)	2 (4D)
Volumen seminal (ml)	2,0	2,5
Concentración espermática (10 ⁶ spz/ml)	48,6	60
Espermatozoides Móviles (%)	0,9	2,4
pH seminal	5,8	5,9
Color seminal	Rosa pálido	Rosa pálido

5.1.2 Variables de tamaño de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*)

Los estadísticos descriptivos (media, desviación estándar, coeficiente de variación y rango), de los parámetros de tamaño de la cabeza espermática estudiada se muestran en el cuadro 12.

Cuadro N° 12. Estadísticos descriptivos del tamaño de la cabeza espermática

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>D.S</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
Largo (µm)	2739	7,7	0,50	6,45	6,1	9,1
Ancho (µm)	2729	3,9	0,21	5,37	3,3	4,7
Área (µm²)	2736	25,5	2,05	8,06	18,4	31,4
Perímetro (µm)	2730	22,0	1,60	7,28	17,9	28,5

N: número de datos; D.S: desviación estándar; C.V: coeficiente de variación

Los coeficientes de variación de los parámetros evaluados del tamaño de la cabeza son bajos en general, mostrando como valor mínimo de coeficiente variación de 5,37% para ancho de cabeza y el valor máximo de 8,06% para el área de la cabeza

espermática. Los bajos coeficientes de variación encontrados en este trabajo son similares a los reportados para corderos (**Gravance et al., 1998**) y cabras (**Gravance et al., 1995**); con valores mínimos para largo de 4,8% y 3,4%; y valores máximos para área de 6,0% y 5,8% respectivamente para corderos y cabras.

No hay reportes de estudios realizados de la morfometría espermática en Venados Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*). Se puede considerar que el espermatozoide del Venado Cola Blanca peruano, es de tamaño similar a la taruka (*Hippocamelus antisensis*), Quispirimachi (2014), reporta de área espermática de $23,5 \pm 2,33\mu\text{m}^2$, el venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*) y la taruka (*Hippocamelus antisensis*) son especies que pertenecen a la misma familia de cérvidos, de ahí que pueda tener alguna similitud en las dicha variable. El ciervo rojo ibérico muestra un área de la cabeza del espermatozoide de $32.6 \pm 2.40\mu\text{m}^2$ (Soler et al., 2005) mayor respecto al Venado Cola Blanca.

El único reporte en morfometría espermática en Venados Cola Blanca, es el reportado por **Meisner et al., (2005)**, quienes reportan el largo y ancho de la cabeza del espermatozoide. Estos resultados son inferiores a los reportados por este trabajo de investigación (6,3 μm y 3,2 μm frente a $7,7 \pm 0,50\mu\text{m}$ y $3,9 \pm 0,21\mu\text{m}$ para el largo y ancho respectivamente). Esta diferencia probablemente sea debido a la técnica de evaluación mediante un sistema CASA y utilizando un calibre en microscopio.

Cuadro N° 13 Parámetros de tamaño de la cabeza espermática por animal

Variable	Animal	N	Media	D.S	C.V (%)	Mínimo	Máximo
Largo (μm)	1	1119	7,6	0,43	5,66	6,1	9,1
	2	1620	7,7	0,53	6,86	6,2	9,0
Ancho (μm)	1	1124	3,9	0,18	4,69	3,3	4,7
	2	1605	3,9	0,23	5,79	3,3	4,7
Área (μm^2)	1	1125	25,5	1,70	6,66	18,6	31,0
	2	1611	25,5	2,27	8,91	18,4	31,4
Perímetro (μm)	1	1119	22,5	1,69	7,51	18,0	28,5
	2	1611	21,6	1,42	6,58	17,9	27,1

N: número de datos; **D.S:** desviación estándar; **C.V:** coeficiente de variación

En el cuadro 12 se muestra las variables de tamaño de cabeza espermática por animal, del Venado Cola Blanca peruano. Los coeficientes de variación son bajos en todos los parámetros de morfometría espermática analizadas por animal; con un valor mínimo para el ancho de cabeza de 4,69% del venado 1, y el valor máximo para el área de cabeza de 8,91% del venado 2. Los bajos coeficientes de variación mostrados en este estudio están acorde a los reportes en cabras y corderos realizados por Gravance *et al.*, (1998, 1995) respectivamente.

En los resultados obtenidos para el área de la cabeza espermática, a partir del análisis de la morfometría del espermatozoide para cada animal (ver el grafico 2, de caja y bigotes), se observa baja variabilidad entre animales en área espermática (6,66% y 8,91% para el Venado Cola Blanca 1 y 2 respectivamente).

5.1.3 Variables de forma de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

No se ha encontrado reportes en variables de forma de la cabeza del espermatozoide del Venado Cola Blanca (*O. virginianus peruvianus*). Sin embargo, hay reportes en especies de la misma familia de cérvidos (**Soler et al., 2005**), como

el ciervo rojo ibérico (*Cervus elaphus hispanicus*) y un estudio realizado por **Quispirimachi, (2014)** en taruka (*Hippocamelus antisensis*).

Los estadísticos descriptivos de las variables de forma de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca se muestran en el cuadro 14.

Cuadro N° 14 Estadísticos descriptivos de forma de la cabeza espermática

	N	Media	D.S	CV (%)	Mínimo	Máximo
Elipticidad	2734	2,0	0,14	7,18	1,6	2,4
Rugosidad	2735	0,7	0,07	10,67	0,4	0,8
Elongación	2730	0,3	0,03	9,79	0,2	0,4
Regularidad	2736	0,9	0,04	3,88	0,8	1,1

N: número de datos; **D.S:** desviación estándar; **C.V:** coeficiente de variación

Todos los valores de coeficiente de variación de las variables de tamaño de la cabeza espermática son bajos en general, mostrando un valor mínimo de 3,88% para regularidad y el valor máximo de 10,67% para rugosidad.

Estos resultados son similares a los reportados por **Soler et al., (2005)**, en ciervo rojo ibérico (1,8; 0,9; 0,3 y 0,9 para elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad respectivamente) y a los estudios realizados por **Quispirimachi, (2014)** con la taruka (1,8; 0,6; 0,3 y 0,9 para elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad respectivamente).

En los resultados de las variables de forma de la cabeza espermática por animal se muestran en el cuadro 15, estos presentan bajos coeficientes de variación, teniendo como valor mínimo de 3,87% para la regularidad del animal 1, y el valor máximo de 12,43% para la rugosidad del animal 1.

Cuadro N° 15 Variables de forma de la cabeza espermática por animal

Variable	Animal	N	Media	D.S	C.V (%)	Mínimo	Máximo
Elipticidad	1	1117	1,9	0,14	6,93	1,6	2,4
	2	1617	2,0	0,14	7,27	1,6	2,4
Rugosidad	1	1122	0,6	0,08	12,43	0,4	0,8
	2	1613	0,7	0,06	8,17	0,4	0,8
Elongación	1	1116	0,3	0,03	9,55	0,2	0,4
	2	1614	0,3	0,03	9,86	0,2	0,4
Regularidad	1	1116	0,9	0,04	3,87	0,8	1,1
	2	1620	0,9	0,04	3,78	0,8	1,1

N: número de datos; D.S: desviación estándar; C.V: coeficiente de variación

Los coeficientes de variación reportados en este estudio son bajos, respecto a otros reportes de coeficientes de variación de variables de forma de la morfometría espermática realizados en otras especies.

CONCLUSIONES

En base a los resultados descriptivos obtenidos en este trabajo de investigación, y a la revisión bibliográfica, podemos afirmar que estos resultados son los primeros para la especie del Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*) y se concluye:

1. Los parámetros de morfometría de tamaño de la cabeza espermática determinados son: largo de cabeza de $7,7 \pm 0,50 \mu\text{m}$; ancho de cabeza de $3,9 \pm 0,21 \mu\text{m}$; área de cabeza de $25,5 \pm 2,05 \mu\text{m}^2$ y perímetro de la cabeza espermática de $22,0 \pm 1,60 \mu\text{m}$.
2. Para los parámetros de forma de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca fueron determinados tal como sigue: elipticidad de $2,0 \pm 0,14$; rugosidad de $0,7 \pm 0,07$; elongación de $0,3 \pm 0,03$ y regularidad de $0,9 \pm 0,04$.
3. . Las características macroscópicas y microscópicas del volumen seminal que fue de color rosa pálido y con volumen seminal que fue de 2.5, con PH seminal de 5.85, los espermatozoides motiles fueron de 1.65%, a una concentración espermática de $54.3 \times 10^6 \text{ spz/ml}$.

RECOMENDACIONES

En base a los resultados y observaciones del presente trabajo de investigación se realiza las siguientes recomendaciones:

- Se recomienda realizar trabajos complementarios a este trabajo, donde se evalué las características de producción seminal (concentración espermática, volumen seminal) y las características de calidad espermática (motilidad vitalidad espermatica) en el Venado Cola Blanca peruano (*O. virginianus peruvianus*).
- Evaluar y determinar el efecto de la morfometría espermática con la fertilidad en Venados Cola Blanca peruano.
- Replicar este trabajo de investigación aplicando otros métodos de colección seminal.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvariño, J. M. R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. *7th World Rabbit Congress, A*, 13–36.
- Arenas, P. (2011).** *El fotoperiodo y su relación con la reproducción del Venado cola Blanca (Odocoileus virginianus miquihuanensis) en el Altiplano Potosino.* Institucion de Enseñanza e Investigacion en Ciencias Agrícolas.
- Baker, R. H. (1984).** Origin, classification and distribution. In *Origin, classification and distribution. in White-tailed Deer: Ecology and Management* (L.K. Halls, pp. 1–18). Harrisburg, P.A.
- Barrio, J. (2006).** Biogeography of Cervidae in Perú. *6th International Deer Biology Congress, 6*, 1–1.
- Bartoš, L., Dušek, A., Kotrba, R., & Bartosova-Vichova, J. (2006).** Advances in Deer Biology: Deer in a Changing World. In L. Bartoš, A. Dušek, R. Kotrba, & J. Bartosova-Vichova (Eds.), *6th International Deer Biology Congress* (Provozovna, pp. 1–299). Praga.
- Brugo, S., Calamera, J., González, O., Deparci, A., Verdinelli, J., JM., ... Lic. Nodar. (1995).** La morfología espermática y su importancia como diagnostico de capacidad fertilizante. *Revista Argentina de Urología, 60(1)*, 35–56.
- Brun, J. M., Theau-Clément, M., & Bolet, G. (2002).** The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science, 70(1)*, 139–149. [http://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00197-X](http://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00197-X)
- Buendia, P., Soler, C., Paolicchi, F., Gago, G., Urquieta, B., Pérez-Sánchez, F., & Bustos-Obregón, C. (2017), E. (2002).** Morphometric characterization and classification of alpaca sperm heads using the Sperm-Class Analyzer computer-assisted system. *Theriogenology, 57*, 1207–1218.
- Casaretto, C., Lombardo, D. M., Giuliano, S., Gambarotta, M., & Carretero, M. I. (2011).** Morphometric analysis of llama (*Lama glama*) sperm head.

Ccalta,(2017).Efecto de la Criopreservacion en la Morfometria del Espermatozoide de Alpaca.

Andrology, 20, 1–7. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01200.x>

Castellini, C., & Lattaioli, P. (1999), Mortimer, S. (2000). Effect of number of motile sperms inseminated on reproductive performance of rabbit does. *Animal Reproduction Science*, 57(1), 111–120. [http://doi.org/10.1016/S0378-4320\(99\)00051-2](http://doi.org/10.1016/S0378-4320(99)00051-2)

Club de Caza Pesca y Turismo. (2010). Plan de manejo del Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus* Gray). Piura: Club de Caza Pesca y Turismo Piura.

Elias, R. (2015). *Protocolo Sanitario para Venados Cola Blanca (Odocoileus virginianus peruvianus) del Sector Sauce Grande - Coto de Caza El Angolo, Piura, Perú.* Universidad Nacional Agraria La Molina.

Esteso, M. C., Soler, A. J., Fernandez-Santos, M. R., Quintero-Moreno, A. A., & Garde, J. J. (2006). Functional Significance of the Sperm Head Morphometric Size and Shape for Determining Freezability in Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*) Epididymal Sperm Samples. *Journal of Andrology*, 27, 662–670. <http://doi.org/10.2164/jandrol.106.000489>

Vasquez, (2016), Analisis de algunas Caracteristicas Morfologicas del Venado de Cola Blanca(*Odocoileus Virginianus*), y su ambiente Ecologico.

Gallina, S., Mandujano, S., Bello, J., Lopez, F., & Weber, M. (2010). White-Tailed Deer *Odocoileus virginianus* (Zimmermann 1780). In J. Barbanti & S. González (Eds.), *Biology and Medicine of Latin American Deer* (Renato Tri, p. 387). Brazil: Funep/IUCN.

Gallina, S., & Lopez Arevalo, H. (2016). *Odocoileus virginianus*, White-tailed Deer. *The IUCN Red List of Threatened Species, Least Conc*, 1–15. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T42394A22162580.en>

- Garner, D., & Johnson, L. (1995).** Viability assessment of mammalian sperm using SYBR-14 and propidium iodide. *Biology of Reproduction*, *53*(2), 276–284. <http://doi.org/10.1095/biolreprod53.2.276>
- Gravance, C. G., Champion, Z. J., & Casey, P. J. (1998).** Computer-Assisted Sperm Head Morphometry Analysis (ASMA) of cryopreserved ram spermatozoa. *Theriogenology*, *49*, 1219–1230.
- Gravance, C. G., Lewis, K. M., & Casey, P. J. (1995).** Computer Automated Sperm Head Morphometry Analysis (ASMA) of goat spermatozoa. *Theriogenology*, *44*, 989–1002.
- Gray, J. E. (1874).** On *Xenelaphus*, *Furcifer* and *Coassus peruvianus* of Peruvian Alps. In *Annals and Magazine of Natural History* (p. 331–332.).
- Guano, M. (2016).** “Programa de manejo sostenible para el venado de cola blanca *Odocoileus virginianus* (Zimmermann, 1780) para la reserva de produccion de fauna chimborazo.” Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Hewitt, D. G. (2011).** The Past. In J. Heffelfinger (Ed.), *Biology and management of white tailed deer* (CRC Press, p. 653). New York.
- Jeyendran, R., Van der Ven, H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B., & Zaneveld, L. (1984).** Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility*, *70*(1), 219–228. <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0700219>
- Kondracki, S., Banaszewska, D., & Mielnicka, C. (2005).** The effect of age on the morphometric sperm traits of domestic pigs (*Sus scrofa domestica*). *CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS*, *10*, 3–13.
- Lavara, R., Moce, E., & Vicente, J. (2003).** Buenas prácticas en inseminación artificial I. *Lagomorfa*, *128*, 14–23.
- Lavara, R., Vicente, J., & Baselga, M. (2011).** Genetic parameter estimates for semen production traits and growth rate of a paternal rabbit line. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, *128*(1), 44–51. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2010.00889.x>

- Lavara, R., Vicente, J. S., & Baselga, M. (2012).** Estimation of genetic parameters for semen quality traits and growth rate in a paternal rabbit line. *Theriogenology*, 78(3), 567–575. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.03.002>
- Lavara, R. (2013).** *Genetics of fresh and frozen-thawed semen traits and their relationship with growth rate in rabbits*. Universidad Politecnica de Valencia.
- Lavara, R., Vicente, J. S., & Baselga, M. (2013).** Genetic variation in head morphometry of rabbit sperm. *Theriogenology*, 80(4), 313–318. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.04.015>
- Lovera, E., Li, O., Perales, R., Falcon, N., & Rios, P. (2011).** Valores hematológicos y bioquímica renal referenciales de venados cola blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) en cautiverio. *Rev Inv Vet Peru*, 22, 28–34.
- Martinez-Pastor, F. (2004).** *Obtención postmortem y calidad de los espermatozoides de la cola del epidídimo del ciervo rojo ibérico (Cervus elaphus hispanicus)*. Universidad de Leon.
- Martínez-Pastor, F., García-Macias, V., Álvarez, M., Herraez, P., Anel, L., & De la Paz, P. (2005).** Sperm Subpopulations in Iberian Red Deer Epididymal Sperm and Their Changes Through the Cryopreservation Process. *Biol Reprod*, 72, 316 – 327.
- Meisner, A. D., Klaus, A. V, & O’Leary, M. A. (2005).** Sperm Head Morphology in 36 Species of Artiodactylans , Perissodactylans , and Cetaceans (Mammalia). *Journal of Morphology*, 202, 179–202. <http://doi.org/10.1002/jmor.10297>
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2014, April 8).** Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI, que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. *El Peruano*, pp. 520497–520504. Lima-Peru.
- Mortimer, S. T. (2000).** CASA — Practical Aspects Andrology Lab Corner. *Journal of Andrology*, 21, 515–524.
- Peña, A. E. (2013).** *Evaluación objetiva de la motilidad de los Espermatozoides*

epididimarios de ciervo ibérico. Relaciones con la congelabilidad y la calidad del semen. Universidad de Castilla la Mancha.

Quintero-Moreno, A. (2003). *Estudio sobre la dinámica de poblaciones espermáticas en semen de caballo, cerdo y conejo.* Universidad Autónoma de Barcelona. Retrieved from <http://ddd.uab.cat/record/37675>

Quispirimachi, R. (2014). *Caracterización de parámetros macroscópicos y microscópicos del semen epididimario de la Taruka (Hippocamelus antisensis) por análisis computarizado con ISAS.* Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Robaire, B., Hinton, B. T., & Orgebin-Crist, M.-C. (2006). The Epididymis. In J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (Third Edit, pp. 1071–1148). Canadá: Elsevier ©.

Rodríguez, M. (2014). *Índice de fragmentación del ADN espermático y test de HOS en semen de llamas (Lama glama) utilizando el Integrated Sperm Analysis Sistem (ISAS).* Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Rodríguez, M. (2016). *Efecto de la selección por ganancia media diaria durante el engorde sobre la calidad espermática en conejo.* Universidad Politécnica de Valencia.

R. Ccoiso Aguila (2019), Estimación de parámetros de Motilidad y Determinación de Subpoblaciones Espermáticas en Semen de Llama (Lama Glama).

Ruiz-García, M., Martínez-Agüero, M., Álvarez, D., & Goodman, S. (2009). Variabilidad genética en géneros de ciervos neotropicales (Mammalia: Cervidae) según loci microsatelitales. *Rev Biol Trop*, 57, 879–904.

Rumiz, D., Rivero, K., Wallace, R., Gómez, H., Sainz, L., & Nuñez, A. (2010). Cervidae-Capítulo 24. In *Distribución y ecología de los Mamíferos medianos y grandes de Bolivia* (p. 658).

Santiago, D. (2012). *Comportamiento sexual del venado cola blanca (Odocoileus virginianus) Aspectos Generales.* Universidad Autónoma Agraria

Antonio Narro.

Smith, W. P. (1991). *Odocoileus virginianus*. *American Society of Mammalogists*, 388, 1–14.

Soler, C., Gadea, B., Soler, A. J., Fernández-Santos, M. R., Moreira, P. N., Nuñez, M., ... Gutierrez, R. (2005). Comparison of three different staining methods for the assessment of epididymal red deer sperm morphometry by computerized analysis with ISAS. *Theriogenology*, 64, 1236–1243.

Velazquéz, J. (2011). *Valoración espermática Post-mortem obtenida de epidídimo de Carnero y Venado cola blanca*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Ccalta,(2017).Efecto de la Criopreservacion en la Morfometria del Espermatozoide de Alpaca.

Verstegen, J., Iguer-Ouada, M., & Onclin, K. (2002). Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, 57(1), 149–179. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00664-1](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00664-1)

Yániz, J. L., Capistrós, S., Palacín, I., & Santolaria, P. (2012). Automatic evaluation of ram sperm morphometry. *Theriogenology*, 77, 1343–1350. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.039>

ANEXOS

Anexo 1. Resolución SERFOR/DGGPFFS



RESOLUCIÓN DE DIRECCION GENERAL N° 235 -2015-SERFOR/DGGSPFFS

Lima, 07 SET. 2015

VISTA:

La solicitud presentada el 20 de enero del 2015, por el señor Gregorio Nina Nina, tesista de la carrera profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, quien solicitó autorización para realizar investigación científica con colecta de fauna silvestre, fuera de Áreas Naturales Protegidas, en el Distrito de Maranganí, Provincia de Canchis, Departamento de Cusco, como parte del estudio titulado: "Caracterización de Parámetros Macroscópicos y Microscópicos del Semen de Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con ISAS"; y,

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 66° de la Constitución Política del Perú, establece que los recursos naturales, renovables y no renovables, son patrimonio de la Nación. El Estado es soberano en su aprovechamiento; asimismo, en su artículo 68° establece que es obligación del Estado promover la conservación de la diversidad biológica;

Que, la Ley N° 26821, Ley Orgánica para el Aprovechamiento Sostenible de los Recursos Naturales, establece en su artículo 9°, referido a la investigación científica, que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica sobre la diversidad, calidad, composición, potencialidad y gestión de los recursos naturales. Asimismo, promueve la información y el conocimiento sobre los recursos naturales. Para estos efectos, podrán otorgarse permisos para investigación en materia de recursos naturales;

Que, el Reglamento de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, aprobado por el Decreto Supremo N° 014-2001-AG, establece en su artículo 328° que la investigación científica o estudio que implique colección de especímenes o elementos de la flora y fauna silvestre no vedados y la obtención de datos e información de campo, requiere autorización del INRENA;

Que, mediante Decreto Legislativo N° 997, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Agricultura, ahora Ministerio de Agricultura y Riego, modificado por la Ley N° 30048, dispone que este Ministerio es el órgano rector del Sector Agrario, el cual comprende entre otras: las tierras de uso agrícola, de pastoreo, las tierras forestales, las eriazas con aptitud agraria; los recursos forestales y su aprovechamiento; la flora y fauna; las actividades de producción, transformación y de comercialización de cultivos y crianzas; asimismo, dispone, entre otros, que este Ministerio diseña, establece, ejecuta y supervisa las políticas nacionales y sectoriales en materia agraria; ejerce la rectoría en relación con ella y vigila su obligatorio cumplimiento por los tres niveles de gobierno;





Que, mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 031-2014-SERFOR-DE, emitida por el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre – SERFOR, se encargó al Blgo. Mirbel Alberto Epiquién Rivera las funciones de Director General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre – SERFOR;

Que, el Informe N° 0018-2015-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPFS-MAEH, de fecha 01 de setiembre del 2015, emitido por la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Fauna Silvestre, señala que la presente investigación reviste de importancia debido a que busca evaluar el semen del venado de cola blanca con el fin de caracterizarlo, para posteriormente realizar estudios de criopreservación, y otras técnicas reproductivas, lo que a futuro podría aportar en el desarrollo de nuevas técnicas de manejo en la especie, para su conservación y aprovechamiento;

Que, el precitado Informe señala que la solicitud materia de resolución, cumple con los requisitos establecidos por el Texto Único de Procedimientos Administrativos del Ministerio de Agricultura y Riego; y,

En uso de las atribuciones conferidas por el artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI, el mismo que en su literal “g” del mencionado artículo señala como una de las funciones de la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre, la de otorgar permisos de investigación o de difusión cultural con o sin colecta de flora y fauna silvestre y sus recursos genéticos.



SE RESUELVE:

Artículo 1°.- Autorizar al señor Gregorio Nina Nina, de nacionalidad peruana, identificado con DNI N° 44846215, estudiante tesista de la carrera profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, realizar la investigación científica en fauna silvestre fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta de testículos enteros de hasta cinco (05) venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*), procedentes de decomisos y caza deportiva; solicitada como parte del proyecto titulado: “Caracterización de Parámetros Macroscópicos y Microscópicos del Semen de Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus peruvianus*) por análisis computarizado con ISAS”, a ser realizado en el Distrito de Marangani, Provincia de Canchis, Departamento de Cusco; por el periodo de un (01) año, contados a partir de la emisión de la presente resolución.

Artículo 2°.- El titular de la autorización, señalado en el artículo precedente se compromete a:

- a) Colectar únicamente los especímenes y muestras autorizadas.
- b) No ceder el material colectado a terceros.
- c) Si por razones científicas acotadas, se requiere enviar al extranjero parte del material colectado, los interesados deberán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR, así como pasar el control respectivo.
- d) No contactar, ni ingresar a los territorios comunales sin contar con la autorización de las autoridades comunales correspondientes.

Que, el artículo 13 de la Ley N° 29763, crea el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR, como organismo público técnico especializado, con personería jurídica de derecho público interno, como pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Agricultura y Riego. Asimismo, se señala que el SERFOR es la autoridad nacional forestal y de fauna silvestre, ente rector del Sistema Nacional de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre (SINAFOR), y se constituye en su autoridad técnico normativa a nivel nacional, encargada de dictar las normas y establecer los procedimientos relacionados a su ámbito;

Que, mediante Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI, se aprobó el Reglamento de Organización y Funciones - ROF del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR, el mismo que en su literal g) del artículo 53°, señala como una de las funciones de la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre, la de otorgar permisos de investigación o de difusión cultural con o sin colecta de flora y fauna silvestre y sus recursos genéticos;

Que, mediante Decreto Supremo N° 016-2014-MINAGRI, se aprobó la modificación del Reglamento de Organización y Funciones del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR, aprobado con Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 424-2014-MINAGRI, se da por concluido el proceso de transferencia de la Dirección General Forestal y de Fauna Silvestre al Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR, así como el proceso de fusión por absorción, entre otros;

Que, la Tercera Disposición Final del Reglamento de Acceso a los Recursos Genéticos, aprobado por Resolución Ministerial N° 087-2008-MINAM, señala que la obtención de permisos, autorizaciones y demás documentos que otorguen entidades públicas, tales como el Ministerio de Agricultura y que amparen la investigación, obtención, provisión, transferencia u otro de recursos biológicos, con fines distintos a su utilización como fuente de recursos genéticos, no faculta a sus titulares a utilizar dichos recursos como medio para acceder a los recursos genéticos, ni determinan ni presumen autorización de acceso;

Que, mediante el Decreto Supremo N° 003-2009-MINAM que eleva a rango de Decreto Supremo la Resolución Ministerial N° 087-2008-MINAM, y ratifica la aprobación del Reglamento de Acceso a Recursos Genéticos efectuadas por la referida Resolución;

Que, el Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI, aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 212-2011-AG, se aprueba la modificación al Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del Ministerio de Agricultura y Riego, el mismo que establece en su procedimiento 21, los requisitos de la autorización para realizar actividades de investigación científica y filmaciones con fines comerciales de flora y fauna fuera de Áreas Naturales Protegidas, el mismo que resulta aplicable para el presente procedimiento, en virtud de lo dispuesto en el artículo 6° de la Resolución Ministerial N° 0424-2014-MINAGRI;



- e) Entregar a la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre una (01) copia del informe final en idioma español, como resultado de la autorización otorgada, copias del material fotográfico y/o slides que puedan ser utilizadas para difusión. Asimismo, entregar una (01) copia de las publicaciones, producto de la investigación realizada en formato impreso y digital, que incluya la lista taxonómica de las especies de fauna objeto de la presente autorización de colecta (en formato Excel).
- f) La entrega de lo indicado en el literal e), no deberá tomar un plazo mayor a los seis (06) meses al vencimiento de la presente autorización.
- g) Indicar el número de la Resolución en las publicaciones generadas a partir de la autorización concedida.

Artículo 3º.- La colecta de los testículos deberá proceder prioritariamente de ejemplares de venado cola blanca que provengan de decomisos con Proceso Administrativo Sancionador concluidos, realizados por las Administraciones Técnicas Forestales y de Fauna Silvestre (ATFFS) del ámbito de estudio, debiendo coordinar con dichas dependencias las facilidades para acceder a tales muestras, en el número necesario para llevar a cabo el proyecto. Adicionalmente las muestras podrán ser obtenidas de ejemplares de venado cola blanca a través de la caza deportiva de machos solitarios, evitando cazar individuos en grupos o con crías. Por otro lado, la caza se deberá realizar en diferentes localidades, evitando de esta forma afectar algún grupo específico. Asimismo, si el investigador realizará la caza personalmente, deberá tramitar la correspondiente Autorización de Caza Deportiva, ante la Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre (ATFFS) de Cusco.

Artículo 4º.- La Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre no se responsabiliza por accidentes o daños sufridos por el solicitante y los investigadores mencionados en el artículo 1º, durante la ejecución del proyecto; asimismo, se reserva el derecho de demandar del proyecto de investigación los cambios a que hubiese lugar en los casos en que se dicten nuevas disposiciones legales o se formulen ajustes sobre la presente autorización.

Artículo 5º.- Los derechos otorgados sobre los recursos biológicos no otorgan derechos sobre los recursos genéticos contenidos en ellos, ni autorizan el estudio a nivel genético, de acuerdo con la Tercera Disposición Final del Reglamento de Acceso a los Recursos Genéticos, aprobado por Resolución Ministerial 087-2008-MINAM, y elevado al Rango de Decreto Supremo mediante Decreto Supremo N° 003-2009-MINAM.

Artículo 5º.- Notificar la presente Resolución al señor Gregorio Nina Nina, y transcribirla a la Dirección General de Información y Ordenamiento Forestal y de Fauna Silvestre, Dirección General de Gestión del Conocimiento Forestal y de Fauna Silvestre y Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre de Cusco del SERFOR.



Regístrese y comuníquese


Mirbel Alberto Epiquién Rivera
Director General
Dirección General de Gestión Sostenible del
Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre

Anexo 2. Estadísticos descriptivos de la morfometría espermática del Venado Cola Blanca.

	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo	Máximo
LONG	2739	7.7	0.50	6.45%	6.1	9.1
ANCHO	2729	3.9	0.21	5.37%	3.3	4.7
AREA	2736	25.5	2.05	8.06%	18.4	31.4
PERI	2730	22.0	1.60	7.28%	17.9	28.5
ELIP	2734	2.0	0.14	7.18%	1.6	2.4
RUGO	2735	0.7	0.07	10.67%	0.4	0.8
ELON	2730	0.3	0.03	9.79%	0.2	0.4
REGUL	2736	0.9	0.04	3.88%	0.8	1.1

Anexo 3 Largo de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1119	7.6077	0.4303	5.65612%	6.05641	9.09035
2	1620	7.72761	0.530384	6.8635%	6.19568	9.00916
Total	2739	7.67862	0.495399	6.45167%	6.05641	9.09035

Anexo 4. Ancho de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1124	3.91262	0.183696	4.69496%	3.34712	4.71077
2	1605	3.91143	0.22653	5.79151%	3.34712	4.71076
Total	2729	3.91192	0.209914	5.36602%	3.34712	4.71077

Anexo 5. Área de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1125	25.466	1.69563	6.6584%	18.5918	31.0296
2	1611	25.4965	2.2722	8.9118%	18.3664	31.3711
Total	2736	25.4839	2.05451	8.062%	18.3664	31.3711

Anexo 6. Perímetro de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1119	22.4922	1.68901	7.50931%	17.9619	28.5142
2	1611	21.5949	1.42117	6.58104%	17.8602	27.12
Total	2730	21.9627	1.59847	7.27813%	17.8602	28.5142

Anexo 7. Elipticidad (l/w) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1117	1.94981	0.135067	6.92716%	1.58206	2.43456
2	1617	1.98104	0.144112	7.27457%	1.5582	2.44118
Total	2734	1.96828	0.141299	7.17879%	1.5582	2.44118

Anexo 8. Rugosidad ($4\pi a/p^2$) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1122	0.639089	0.0794318	12.4289%	0.409048	0.78634
2	1613	0.690427	0.0563785	8.16575%	0.434075	0.814258
Total	2735	0.669366	0.0714071	10.6679%	0.409048	0.814258

Anexo 9. Elongación ($(l-w)/(l+w)$) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1116	0.320501	0.0306086	9.55023%	0.225425	0.41481
2	1614	0.327482	0.0322805	9.85717%	0.220874	0.414597
Total	2730	0.324628	0.0317879	9.79209%	0.220874	0.41481

Anexo 10. Regularidad ($\pi l w/4a$) de la cabeza espermática del Venado Cola Blanca

			<i>Desviación</i>	<i>Coficiente</i>		
<i>ANIM</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Estándar</i>	<i>de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	1116	0.918887	0.0355977	3.874%	0.827697	1.06867
2	1620	0.931669	0.0351862	3.77668%	0.828401	1.08127
Total	2736	0.926455	0.0359021	3.87521%	0.827697	1.08127

ANEXO 11. Gráfico de caja y bigotes de la morfometría espermática del venado cola blanca

