

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**Comparación de las tinciones de Feulgen y Azul de Toluidina para la
visualización del ADN para la identificación del sexo en Psittacaras de
Zoomundo, Arequipa 2023**

Tesis presentada por la Bachiller:

Fernández Velásquez, Dayana del Rosario

ORCID: 0009-0004-1437-5281

para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista

Asesor:

Dr. Fernández Fernández, Fernando

ORCID: 000-0001-6910-157X

Arequipa – Perú

2024

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 09 de Abril del 2024

Dictamen: 010130-C-EPMVZ-2024

Visto el borrador del expediente 010130, presentado por:

2018241732 - FERNANDEZ VELASQUEZ DAYANA DEL ROSARIO

Titulado:

**COMPARACIÓN DE LAS TINCIONES DE FEULGEN Y AZUL DE TOLUIDINA PARA LA
VISUALIZACIÓN DEL ADN PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL SEXO EN PSITTACARAS DE
ZOOMUNDO, AREQUIPA 2023**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

**29327492 - VALDEZ NUÑEZ VERONICA ROCIO
DICTAMINADOR**



**29729675 - ZUÑIGA VALENCIA ELOISA GABRIELA
DICTAMINADOR**



**40688434 - AGUILAR BRAVO HERBERT MISHAELF
DICTAMINADOR**



Comparación de las tinciones de Feulgen y Azul de Toluidina para la visualización del ADN para la identificación del sexo en Psittacaras de Zoomundo, Arequipa 2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	lorosenargentina.blogspot.com.ar Fuente de Internet	1%
2	Submitted to Universidad Anahuac México Sur Trabajo del estudiante	1%
3	sired.udenar.edu.co Fuente de Internet	1%
4	cdn.www.gob.pe Fuente de Internet	1%
5	www.uaemex-cuameca.mx Fuente de Internet	1%
6	repositorio.serfor.gob.pe Fuente de Internet	1%
7	repositorio.unjbg.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	bases.bireme.br Fuente de Internet	1%

DEDICATORIA

Con gratitud y humildad dedico esta tesis a Dios, por haberme permitido vivir cada momento en estos años de estudio, por darme la capacidad y la salud para superar los desafíos académicos y personales.

Dedico con todo mi corazón este trabajo de tesis a mis padres Jesús y Lourdes, por impulsarme en mis sueños, sin ellos no hubiera logrado confiar y creer en mí, solo tengo palabras de admiración y gratitud a quienes supieron guiarme durante mi vida.

A mi hermana Graciela, quien ha sido una fuente constante de inspiración, por ser mi compañera de vida y mi mejor amiga, sin tu apoyo incondicional no hubiera logrado conseguir cada objetivo trazado incluyendo este.

A mi querida y fiel compañera de estudios Gigi, a lo largo de estos años tu presencia ha hecho cada momento más llevadero y significativo, gracias por no dejarme en esas largas noches de estudio, donde tan solo mirarte reafirmaba mi vocación.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Católica Santa María, por haberme permitido formarme en ella, cumpliendo uno de mis más grandes sueños, y en especial a cada uno de los docentes que fueron parte de mi formación académica e impartieron su conocimiento construyendo una base en mi vida profesional.

A mi asesor, Dr. Fernando Fernández Fernández, por su orientación y sabiduría. Ha sido un mentor excepcional que supo guiarme para lograr mi objetivo. Agradezco profundamente su tiempo, dedicación y experiencia en mi formación académica.

Al Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre, por los permisos facilitados para la realización de este proyecto de tesis conforme lo establece la ética.

Al Dr. José Granados García, por proporcionar su tiempo y dominar en cada consejo e indicación brindada, de igual forma al personal del Parque Albergue ZooMundo que me ayudó en la realización de este trabajo de investigación.



RESUMEN

La determinación del sexo en las psittacaras presenta dificultades debido a que no existe dimorfismo sexual y no se puede establecer visualmente si un ave es hembra o macho, por lo que no es posible disponer las parejas para la conservación de la especie con facilidad.

Actualmente existen una gran variedad de métodos para realizar este procedimiento, sin embargo, muchos de estos presentan desventajas, ya que pueden llegar a ser invasivas y estresantes para los animales, requieren de mucha inversión y tiempo o pueden llegar a ser inexactas debido a lo expuesto es necesario buscar nuevas alternativas rápidas y eficientes, por lo que el presente trabajo tiene como objetivo comparar dos tinciones citológicas para identificar el sexo en psittacaras de un zoológico de Arequipa y corroborarlo mediante pruebas de ADN.

Para la identificación del sexo en psittacaras se utilizó las tinciones de Feulgen y Azul de Toluidina para la visualización del corpúsculo de Barr en las hembras, corroborando los resultados con pruebas de ADN, se evaluó 12 especímenes de los cuales observamos 7 machos y 5 hembras, concluyendo que las pruebas de ADN y las tinciones citológicas, mostraron resultados iguales; dando una valoración casi perfecta en la magnitud de la concordancia. Se puede decir que ambas pruebas en el sexaje de aves son igual de exactas para este procedimiento.

Palabras Clave: Sexaje, tinciones, corpúsculo de Barr

ABSTRACT

Determining sex in psittacaras presents difficulties because there is no sexual dimorphism and it cannot be established visually whether a bird is female or male, so it is not possible to easily arrange pairs for the conservation of the species.

Currently there are a wide variety of methods to perform this procedure, however, many of these have disadvantages, since they can be invasive and stressful for animals, require a lot of investment and time or can be inaccurate due to the above. It is necessary to look for new fast and efficient alternatives, so the present work aims to compare two cytological stains to identify sex in psittacaras from a zoo in Arequipa and corroborate it through DNA tests.

For the identification of sex in psittacaras, Feulgen and Toluidine Blue stains were used to visualize the Barr corpuscle in females, corroborating the results with DNA tests, 12 specimens were evaluated, of which we observed 7 males and 5 females. concluding that the DNA tests and cytological stains showed the same results; giving an almost perfect assessment of the magnitude of the agreement. It can be said that both tests in bird sexing are equally accurate for this procedure.

Keywords: Sexing, stains, Barr's corpuscle



ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	IV
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. ENUNCIADO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....	2
1.4. OBJETIVO.....	4
1.5. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II.....	5
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Análisis Bibliográficos.....	6
2.1.1. Psitácidos.....	6
2.1.2. Psittacaras.....	6
A. Especies.....	6
B. Características morfológicas.....	8
C. Anatomía.....	11
D. Fisiología.....	20
E. Distribución.....	20
F. Habitad.....	20
G. Costumbres.....	21
H. Alimentación.....	21
I. Reproducción.....	22
J. Estado de conservación y situación actual.....	22
K. Importancia de las especies <i>Psittacara erythrogenys</i> , <i>Psittacara wagleri</i>	23
2.1.3. Dimorfismo sexual.....	23
2.1.4. Pruebas para determinar el sexo en psitácidos.....	23
2.1.5. Coopusculo de Barr.....	26
A. Antecedentes.....	27
B. Características y estructura.....	27
C. Tinciones utilizadas para la visualización.....	28

D. Formación del coopusculo de Barr	28
E. Determinación sexual.....	29
2.1.6. Coloración.....	30
a) Fuelgen.....	30
b) Azul de Toluidina	30
2.1.7. ADN.....	30
Cromosomas en las aves	31
Sexaje en aves	31
Importancia.....	31
2.2. Antecedentes investigación.....	32
2.2.1. Análisis de tesis	32
2.2.2. Análisis de trabajos investigativos.....	32
CAPÍTULO III	33
3. MATERIALES Y METODOS	34
3.1. Materiales.....	34
3.2. Métodos.....	35
3.3. Variables de Respuesta.....	38
3.4. Evaluación Estadística.....	38
3.5. Análisis Estadístico.....	39
CAPÍTULO IV	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1. RESULTADOS	41
4.2. DISCUSIÓN	45
CAPÍTULO V.....	47
5. CONCLUSIONES	48
CAPÍTULO VI	49
6. RECOMENDACIONES	50
CAPÍTULO VII.....	51
REFERENCIAS	52

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PSITTACARA WAGLERI.	7
FIGURA 2. PSITTACARA ERYTHROGENYS.	8
FIGURA 3. CARACTERÍSTICAS DE LOS PSITTACARAS..	9
FIGURA 4. CARACTERÍSTICAS DEL PICO.	10
FIGURA 5. MORFOLOGÍA DE LOS PSITTACARAS.	10
FIGURA 6. ESTRUCTURA EPIDÉRMICA.	12
FIGURA 7. VISUALIZACIÓN DEL CORPÚSCULO DE BARR EN LA MUCOSA BUCAL.	28
FIGURA 8. ESQUEMATIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA.	37
FIGURA 9. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.	38
FIGURA 11. TINCIÓN DE TOLUIDINA Y TINCIÓN DE FEULGEN (MACHO).	43
FIGURA 12. TINCIÓN DE TOLUIDINA Y TINCIÓN DE FEULGEN (HEMBRA).	43



CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ENUNCIADO DEL PROBLEMA

Comparación de las tinciones de Feulgen y Azul de Toluidina para la visualización del ADN para la identificación del sexo en Psittacaras de Zoomundo, Arequipa 2023.

1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El género de las psittacaras consta de una gran variedad de especies, las cuales han sido amenazadas por actividades antrópicas, este grupo de aves tiene un mayor declive poblacional a causa de la cacería, fragmentación y degradación de su hábitat (1), además que son amenazados con el tráfico ilegal de mascotas por su gran vistosidad. Si bien una de las principales acciones para contrarrestar esta problemática es la concientización de las personas, es muy importante la conservación y preservación de las especies en cautiverio; para el éxito de estos programas es relevante obtener parejas viables para la continuidad de las especies, aquí la importancia del sexaje en las aves.

La determinación del sexo en las psittacaras presenta dificultades debido a que no existe dimorfismo sexual y no se puede establecer visualmente si un ave es hembra o macho, por lo que no es posible disponer las parejas para la conservación de la especie, con facilidad.

Actualmente existen una gran variedad de métodos para realizar este procedimiento, sin embargo, muchos de estos presentan desventajas, ya que pueden llegar a ser invasivas y estresantes para los animales, requieren de mucha inversión y tiempo o pueden llegar a ser inexactas debido a lo expuesto es necesario buscar nuevas alternativas rápidas y eficientes.

1.3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

1.3.1. Aspecto General

Verificar nuevas técnicas para la determinación del sexo en aves del género de psittacaras con el fin de buscar nuevas herramientas fiables como es el diagnóstico microscópico mediante la cromatina de Barr.

1.3.2. Aspecto Tecnológico

Mediante el uso de tinciones microscópicas se busca obtener de manera eficiente y rápida la determinación del sexo en psittacaras sin realizar procedimientos muy invasivos y estresantes en las aves. Estos procedimientos se basan en la toma de muestras orales (mucosa oral), para determinar la presencia del corpúsculo de Barr que solo se encuentra en las hembras; la cromatina sexual altamente condensada podrá ser visualizada en las células de la mucosa oral a través de las tinciones microscópicas.

1.3.3. Aspecto Social

A través de la detección rápida y eficaz del sexo en psitácidas, los programas de conservación y de preservación de la especie podrán ser llevados de una forma más práctica, además este valioso dato servirá clínicamente en el bienestar de los animales, dado que al ser diferenciados en el sexo se podrá prevenir enfermedades en especial las de carácter reproductivo.

1.3.4. Aspecto Económico

Las pruebas para la determinación de sexo en aves más eficaces tienen un elevado costo, este proyecto tiene una inversión que ayudara en la proximidad contar con una técnica accesible, de bajo costo y confiable para que todos los interesados en el ámbito puedan realizar la determinación del sexo en especies que no presentan un dimorfismo sexual.

1.3.5. Importancia del trabajo

Importancia de la investigación radica en buscar la conservación y preservación en el género de las psitácidas, es fundamental diferenciar el sexo de las aves para poder iniciar la reproducción. Los diferentes procedimientos actuales para la determinación del sexo tienen desventajas en el manejo de las aves y en sus elevados costos, por lo que es importante implementar nuevas técnicas para el sexaje de las aves de una manera rápida y eficaz.

1.4.OBJETIVO

1.4.1. Objetivo General

Comparar dos tinciones citológicas para identificar el sexo en psitácidas de un zoológico de Arequipa y corroborarlo mediante pruebas de ADN

1.4.2. Objetivo Específicos

- Identificar el corpúsculo de Barr en psittacaras con el uso de la Tinción de Feulgen
- Identificar el corpúsculo de Barr en psittacaras con el uso de la Tinción con azul de toluidina
- Identificar el sexo en psittacaras con el uso de la prueba de ADN.

1.5. HIPÓTESIS

Dado que el corpúsculo de Barr es una masa condensada de ADN y se encuentra en la parte periférica del núcleo de las células somáticas de las hembras, es posible que al teñir el corpúsculo de Barr con tinción Feulgen y tinción con azul de toluidina se pueda identificar el sexo en los psitácidas.



CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Análisis Bibliográficos

2.1.1. Psitácidos

Los psitácidos (Psittacidae) pertenecen a una familia de Psittaciformes llamadas coloquialmente loros. Este grupo comprende a los guacamayos, cotorras y las formas semejantes de América y África. Pertenecen a la superfamilia Psittacoidea y está formada por otras dos familias: Psittichasiidae y Psittaculidae (5).

Esta familia de aves es afectada por diversas actividades antropogénicas. Las principales amenazas que provocan la desaparición de estas familias son la caza, el saqueo de nidos para el comercio ilegal de estos animales como mascotas, así como la degradación y segmentación de los ecosistemas en los que viven (6).

Este es un gran grupo de aves con un gran número de especies en riesgo de extinción y es el grupo con un gran número de especies naturalizadas (7).

2.1.2. Psittacaras

Psittacara es un género de aves de la familia Psittacidae. Sus especies habitan en los bosques y selvas de las regiones templadas y cálidas de Centroamérica y el norte y centro de Sudamérica y comúnmente se les llama cotorras, loros o calancates.

Hasta 2013, todas las especies fueron asignadas al género Aratinga, que se dividió en cuatro géneros cuando se demostró su polifilia mediante análisis de ADN mitocondrial.

Este género de loros se encuentra en peligro crítico de extinción a nivel mundial por el tráfico ilegal de vida silvestre, que ha reducido significativamente sus poblaciones en ambientes naturales y lo ha introducido en otros lugares del mundo. Estas no son especies legalmente protegidas (8).

A. Especies

Este género fue descrito originalmente en 1825 por el zoólogo y político irlandés Nicholas Aylward Vigors. Se divide en especies (8):

- *Psittacara holochlorus*
- *Psittacara strenuus*

- *Psittacara wagleri*:

El loro frente roja o loro cabeza esarlata, también conocido como aratinga de Wagler, perico frentirojo, loro de frente roja o chacaraco y en el quechua de Ancash – Perú se les da el nombre de Qaqchu, esta especie es un ave sudamericana del género *Psittacara* de la familia de los loros (*Psittacidae*). Se distribuye en Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú (9).

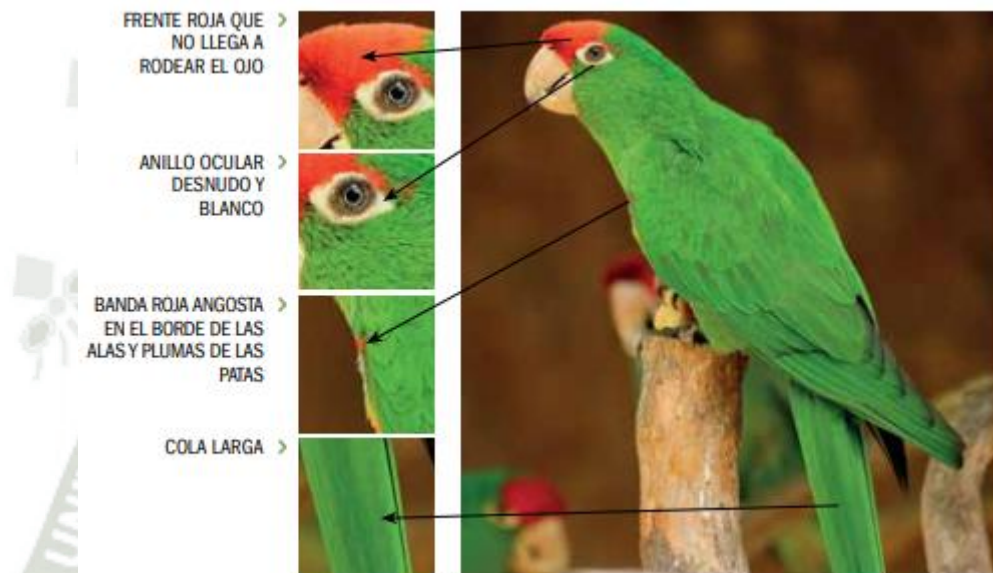


Figura 1. *Psittacara wagleri*. Fuente: SERFOR 2016

- *Psittacara mitratus*
- *Psittacara erythrogenys*

El loro cabeza roja o aratinga de Guayaquil (*Psittacara erythrogenys*) es una especie de ave Psittaciformes de la familia *Psittacidae*, originaria del noroeste de Sudamérica. Con más de 26.000 individuos entre 1981 y 1985, fue el décimo loro neotropical importado a los Estados Unidos y por lo que se asilvestró en California. En 1994 fue reclasificada como especie casi amenazada (10).

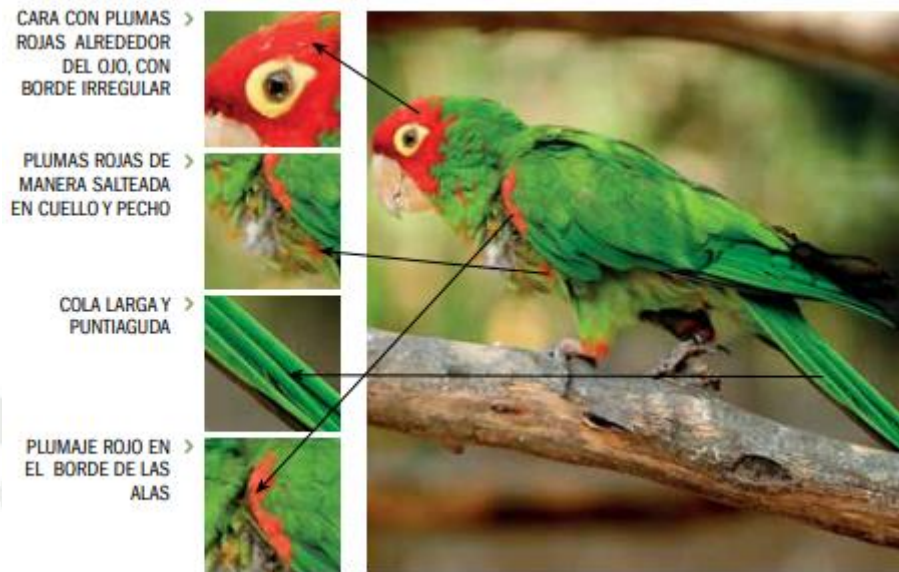


Figura 2. *Psittacara erythrogenys*. Fuente: SERFOR 2016

- *Psittacara rubritorquis* Scatler
- *Psittacara finschi*
- *Psittacara leucophthalmus*
- *Psittacara brevipes* Lawrence
- *Psittacara euops*
- *Psittacara frontatus* Cabanis
- *Psittacara chloropterus* Souancé
- *Psittacara maugaei* Souancé (8)

B. Características morfológicas

El *Psittacara erythrogenys* (loro cabeza roja) es un loro de tamaño mediano que mide aproximadamente de 33 a 35,5 cm. Este loro muestra un color rojo en la cabeza que se extiende detrás del ojo y pequeñas manchas rojizas hacia las mejillas, con un anillo periocular estrecho alrededor del ojo, un cuerpo verde con élitros rojos y una cola larga que gradualmente se desvanece hacia los extremos de la punta. La Wildlife Conservation Society menciona que pesan aprox. 100 gramos y las crías jóvenes no tienen color rojo en la cabeza, el pico es color marfil, los adultos tienen una cola larga que termina en punta (11).

Mientras tanto, el *Psittacara wagleri* (Loro de frente roja) es un loro más grande que el *Psittacara erythrogenys* (Loro cabeza roja), y mide alrededor de 36-40 cm. En las peculiaridades de los colores de las plumas de esta especie, presenta la parte superior de la cabeza es roja y pequeñas manchas en las mejillas, una estrecha franja roja en los bordes de las alas y en las plumas de las patas; además de otros detalles, debajo de las alas y la cola tiene un plumaje de color amarillo oliva, un pico color carne y un iris blanco azulado con un anillo ocular blanco, también con una cola larga y puntiaguda; Los polluelos tienen poco color rojo en la cabeza, patas y alas, y la mayoría de sus plumas son verdes (11).

Los psittacaros tienen un pico con una característica forma curva, una mandíbula superior con ligera movilidad que linda con el cráneo y una postura generalmente erguida. Generalmente viven en zonas cálidas y boscosas. Vuelan bien y trepan hábilmente a ramas y árboles utilizando sus garras prensiles zigodáctilas. Además, tienen una gran capacidad craneal, lo que los convierte en uno de los grupos de aves más inteligentes.

La esperanza de vida de los loros alcanza, según la especie, de cinco a setenta y cinco años (5).

Se indica las siguientes características de las psittacaros:



Figura 3. Características de los psittacaros. Fuente: A. Sepulveda, 2019.

También refiere las características comunes del pico de las Psittacaras:

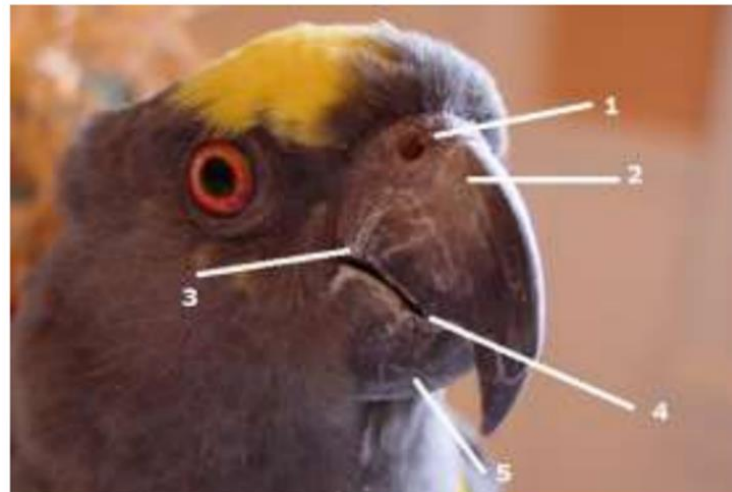


Figura 4. Características del pico: 1. La cera, 2. Roniteca, 3. Comisura, 4. Tomio y 5. Gnatoteca.
Fuente: A. Sepulveda, 2019.

El rasgo morfológico de las Psittacaras:

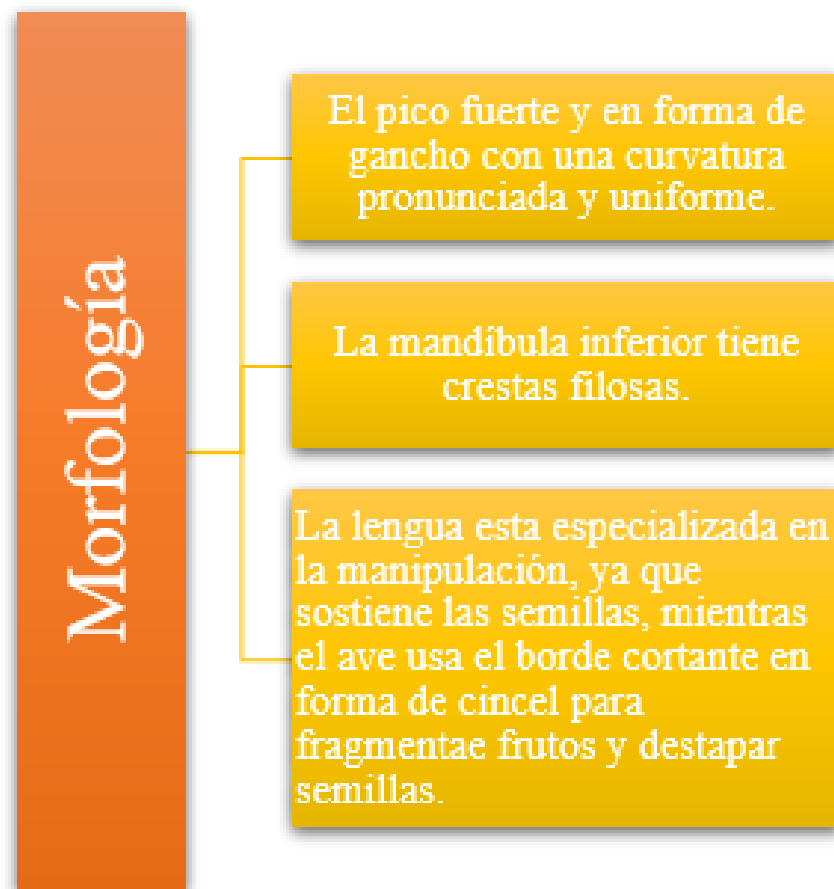


Figura 5. Morfología de los Psittacaras. Fuente: A. Sepulveda, 2019.

C. Anatomía

a) Tegumento Común:

La piel de las aves es fina, seca y de color blanco amarillento, con pocos vasos y terminaciones nerviosas; esto hace que se lacere con facilidad, prácticamente sin sangrado ni dolor (12).

Aunque la epidermis es delgada en todas las zonas pobladas de plumas, se espesa y se queratiniza en determinadas zonas, formando estructuras como la ramfoteca del pico, las uñas o garras y el espolón que algunas especies poseen en la superficie medial del pico. En el tarso/metatarso se modifica la epidermis, formando escamas similares a las que recubren el cuerpo de los reptiles. Pero el rasgo más característico de la piel de las aves es sin duda la presencia de plumas. Se trata de formaciones epidérmicas sin células vivas y fuertemente queratinizadas y mineralizadas. Las plumas cumplen diversas funciones: ayudan a regular la temperatura corporal, sirven como fuerza aerodinámica durante el vuelo, su color permite el camuflaje o la comunicación entre diferentes individuos. En los adultos se describen tres tipos principales (12):

- a. Plumas de revestimiento, subdivididas en coberteras (tectrices), remeras (primarias y secundarias) y timoneras.
- b. Plumones: plumas pequeñas cubiertas por las de revestimiento. En psitácidas se describe el plumón polvoriento, que contiene pequeños gránulos de queratina que favorecen la limpieza de todo el plumaje.
- c. Filoplumas o plumas rudimentarias relacionadas con la propiocepción(12).

El plumaje se renueva periódicamente mediante un proceso llamado “muda”, proceso por el cual la pluma se deja caer y se reemplaza por una nueva. El plumaje cambia una vez al año, casi siempre a finales del verano o en otoño, aunque es normal que las psitácidas muden durante todo el año. Durante este tiempo, las aves atraviesan un estado fisiológico de resistencia reducida a los patógenos, que debe ser tenido en cuenta por criadores y veterinarios. Algunas especies pierden la mayor parte de sus plumas de una vez, mientras que otras lo hacen de forma más sistemática (12).

La piel de las aves carece de glándulas sebáceas y sudoríparas, excepto las del conducto auditivo externo (glándulas sebáceas) y las llamadas glándulas uropígea. El tejido subcutáneo es raro, aunque la acumulación de tejido graso es común en determinadas zonas del cuerpo (pecho y abdomen) (12).

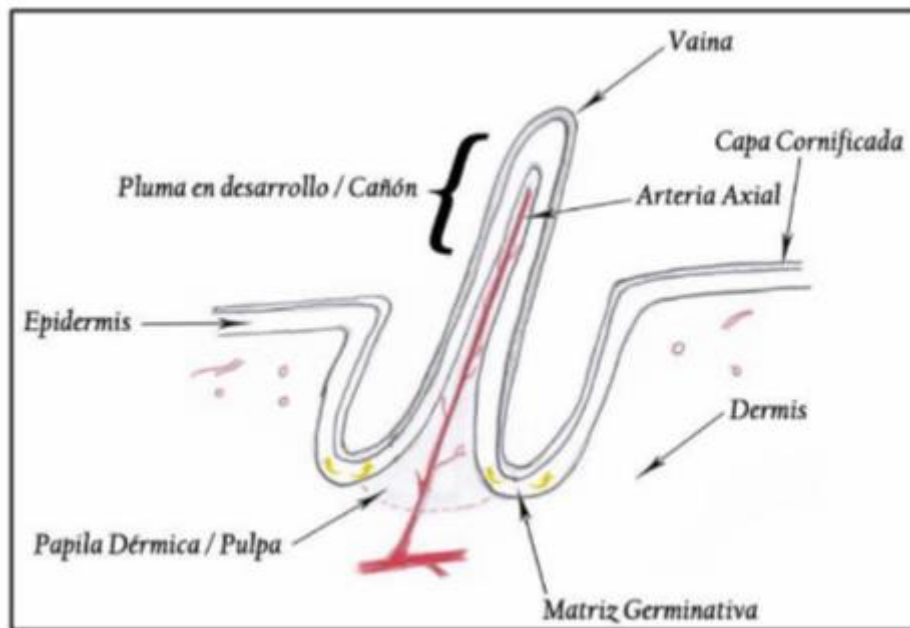


Figura 6. Estructura epidérmica. Fuente: A. Nuevo, 2009.

b) Esqueleto:

El esqueleto de las aves es más ligero que el de los mamíferos porque una gran parte de sus huesos contienen aire (neumatización) en lugar de médula ósea. Las cavidades óseas neumatizadas están asociadas con el sistema respiratorio y están destinadas a reducir el peso corporal para favorecer el vuelo. Una excepción a esta regla son los huesos debajo del húmero y la pelvis. La reducción del peso del tejido óseo puede llegar a casos extremos (12).

Los huesos largos también tienen una corteza muy delgada y en la cavidad medular hay una red de trabéculas óseas que aumentan la resistencia del hueso. Estas circunstancias hacen que los huesos de las aves sean más duros, pero al mismo tiempo más quebradizos y menos elásticos que los de los mamíferos. Por este motivo, se rompen con facilidad al fracturarse, imposibilitando su reparación con placas metálicas o clavos intramedulares que destruyen la estructura interna (12).

c) Esqueleto cefálico:

Presenta tres rasgos fundamentales: cráneo abovedado, órbitas de gran tamaño separadas por un fino septo interorbitario y modificación de los huesos de la cara para formar el pico (rostro piramidal) (12).

El parte superior del pico está formado por los huesos premaxilar, maxilar y nasal; y la válvula inferior consta de cinco huesos pequeños, que se fusionan tempranamente para formar la mandíbula.

Nótese la existencia de un único cóndilo occipital y la presencia del llamado hueso cuadrado que conecta la mandíbula con el cráneo (hueso temporal). Los huesos cuadrados forman el elemento más importante del llamado aparato maxilopalatino. Además, en los psitácidos, la articulación craneofacial es de tipo sinovial, lo que hace que los movimientos del maxilar (válvula superior) sean más amplios y fuertes en relación con la mandíbula (válvula inferior) (12).

d) Esqueleto del tronco (vértebras, costillas y esternón):

La columna vertebral de las aves se divide en secciones cervical, torácica, lumbosacra y coccígea. La fórmula vertebral varía según la especie y, en comparación con los mamíferos, las vértebras cervicales son muy numerosas. En general, se puede utilizar una fórmula espinal compuesta por las siguientes vértebras: C14, T7, LS14, Cd6. Las vértebras cervicales son muy numerosas (entre 13 y 25 según la especie) y presentan prolongaciones prominentes que permiten la implantación de potentes músculos en el cuello. La forma de “S” de la columna cervical es necesaria en muchas especies para proporcionar protección elástica al cerebro contra los golpes que se producen después de un salto o un vuelo. El atlas tiene forma de anillo y no tiene alas. Debido a que solo hay un cóndilo, la articulación atlanto occipital es muy móvil, lo que permite a la cabeza y por tanto al pico realizar numerosos movimientos en todas direcciones. Las vértebras torácicas son más pequeñas (5 a 7) que en los mamíferos y varias de ellas están fusionadas para formar el hueso de notario (12).

Las dos últimas vértebras torácicas se fusionan con la vértebra lumbar, el sacro y las dos primeras vértebras coccígeas y forman el hueso sacro, que finalmente también se fusiona con el ilion. Notarium y synsacrum aportan a esta zona de la columna una gran rigidez, necesaria para el vuelo (12).

Las costillas están ubicadas a ambos lados de la columna en el mismo número que las vértebras torácicas. Los primeros 2 o 3 son asternales, mientras que el resto se extiende directamente hasta el esternón (costillas esternales). A diferencia de los mamíferos, el cartílago costal de este último se osifica, lo que en las aves describe dos partes óseas en la costilla: la parte vertebral, que está conectada a las vértebras, y la parte esternal, que está conectada al esternón. Las nervaduras centrales tienen procesos uncinados dirigidos caudalmente y que tocan la superficie lateral de la siguiente costilla. (12).

Dependiendo de especie, el esternón un hueso de gran tamaño presenta varias apófisis, muescas o agujeros. En su superficie dorsal existen agujeros neumáticos que se comunican con el saco aéreo de la clavícula. En las aves voladoras, en su cara ventral sobresale una cresta del esternón muy desarrollada que permite la implantación de los músculos pectorales (12).

e) Esqueleto del miembro torácico:

La transformación de los miembros pectorales en alas provocó cambios importantes que se pueden resumir en los siguientes:

- Existe un esqueleto zonal completo formado por tres huesos: la coracoides, la clavícula y la escápula.
- El esqueleto apendicular ha sufrido pérdida ósea y el húmero está neumatizado (12).

El hueso coracoides está muy desarrollado y conecta el esternón con el esternón. De esta forma, ayuda a mantener el ala alejada del esternón durante el vuelo y, junto con las costillas, evita que la caja torácica colapse durante el aleteo. Las dos clavículas se unen ventralmente y forman la horquilla o fúrcula, que conecta el esternón y la coracoides mediante una membrana. La fúrcula conecta las articulaciones de los hombros como una banda elástica y actúa como un resorte que mantiene la distancia adecuada entre las articulaciones de los hombros al golpear (12).

En determinadas especies de loros, este hueso puede faltar o estar presente sólo de forma muy rudimentaria. El omóplato es estrecho y curvado y se ajusta lateral y horizontalmente a la caja torácica, a la que está unido mediante músculos y ligamentos. Entre los tres huesos del esqueleto zonal hay un canal óseo (canal triosótico), a través del cual discurre el tendón del músculo pectoral profundo.

El húmero es similar al de los mamíferos, pero está neumatizado. El agujero neumático se sitúa en el extremo proximal, donde se desprenden dos tubérculos (dorsal y ventral) hasta la inserción del músculo. Cuando el ala está retraída, el húmero se coloca contra la caja torácica paralela al omóplato.

El cúbito está más desarrollado que el radio y ambos huesos están curvados, lo que los protege de las fuerzas de flexión en el plano del ala. La epífisis distal del cúbito se puede utilizar para la administración intramedular de sustancias (12).

En lo que respecta a los huesos del carpo, existe una reducción significativa en comparación con los mamíferos. En la fila proximal sólo se conservan los huesos carporadial

y carpular, mientras que los huesos de la fila distal se fusionan con el metacarpiano formando el llamado carpometacarpo.

Esto crea tres dedos: el mayor con dos falanges, el pequeño con una falange y el dedo alular, también con dos falanges. Las plumas de vuelo principales están adheridas al hueso del carpo y a las falanges de los dedos mayor y meñique, mientras que el dedo anular porta el ala bastarda. Si el ave aún es un polluelo, se puede quitar la punta del ala cortándola en la zona carpometacarpiana proximal, evitando que el ave vuele (12).

f) Esqueleto del miembro pelviano:

Las extremidades pélvicas se utilizan para la locomoción en ambientes terrestres o acuáticos. Al igual que en los mamíferos, el esqueleto zonal está formado por tres huesos: el ilion, el isquion y el hueso púbico, que se unen para formar el innominado.

El fémur es similar al de los mamíferos y su extremo distal se inclina cráneo lateralmente, acercando gran parte del miembro pélvico al centro de gravedad del cuerpo. Los pájaros también tienen rótulas. En cuanto a los huesos de la pierna, el peroné se reduce a un hueso delgado y ahusado, mientras que la tibia comprende distalmente la fila proximal de huesos del tarso y forma el tibio tarso. A diferencia de otros huesos largos, el fémur y el tibio tarso son muy ricos en médula ósea.

El esqueleto del pie consta de los huesos metatarsianos II, III y IV, que se fusionan con la fila distal de huesos del tarso para formar el tarso/metatarso. La falange más distal forma la base ósea de la uña o garra (12).

g) Articulaciones y músculos esqueléticos:

Los músculos más importantes son los músculos pectorales, que alcanzan un tercio de la masa corporal del ave. Esta concentración muscular, este peso y esta parte central cercana al centro de gravedad garantizan la estabilidad en vuelo.

El aspecto rojizo se debe a la alta concentración de mioglobina, es decir el pigmento encargado de transportar oxígeno a la sangre y dotado de una rica red de vasos sanguíneos.

El músculo rojo estará presente en regiones con alta demanda energética como son los músculos implicados en el vuelo, es decir, los pectorales o muslos, que tienen una gran capacidad de agarre en estas aves arbóreas, siendo músculos que dejan de trabajar durante mucho tiempo.

El músculo blanco produce contracciones rápidas; Los músculos implicados en el vuelo son los pectorales y supracoracoides.

Los pectorales, que van desde el esternón hasta el húmero, son importantes en el vuelo, que se basa en un intenso aleteo de las alas, como es el caso de la mayoría de las psitácidas, especialmente los pectorales superficiales, que se diferencian de los pectorales profundos. para especies que recurren con frecuencia al planeo para hacer frente a las limitaciones que deben mantener las alas inmovilizadas frente al viento.

El músculo supracoracoideo se inserta en la parte ventral del esternón, está hacia adentro, debajo de los pectorales, conectándose con el húmero a través del canal trioso (13).

h) Aparato Digestivo:

Las cavidades oral y faríngea se describen como una única cavidad orofaríngea, caracterizada por la existencia de un largo paladar duro y presencia de papilas cornificadas dispuestas en hileras. No suele existir, por lo tanto, ni paladar blando ni nasofaringe, de modo que las coanas y trompas auditivas se abren a la cavidad bucofaríngea (12).

Por lo general, la lengua se adapta a la forma del pico y se puede observar junto con las papilas filiformes. Estas papilas funcionan como barrera para el filtro de alimento. Las psitácidas tienen una lengua larga y carnosa (formados por sus propios músculos) y muy móviles, lo que también facilita la emisión de sonido y palabras. Por lo que no hay masticación, las glándulas salivales se vuelven significativamente más pequeñas.

De la faringe se pasa al esófago, cuya abertura de entrada (vestíbulo esofágico) debe ubicarse para rehidratar o alimentar al ave exhausta. La inserción de la sonda debe realizarse sin pasar por la entrada a la laringe (glotis), que se encuentra en una proyección ventral del esófago. Inicialmente, el esófago se encuentra entre la tráquea y los músculos de la garganta, pero rápidamente se desvía hacia la derecha y mantiene esta posición a medida que avanza por la garganta. En la parte caudal del esófago hay una colección de tejido linfático llamada amígdala esofágica. Aunque no es así en todas las especies, el esófago suele tener un agrandamiento llamado buche que sirve como reservorio de alimento (no se produce digestión) (12).

Según la especie, varía la forma del buche, por lo que Psittacidae es similar a una "S". El proventrículo, ventrículo subcenturio o estómago glandular, está en contacto ventral con el lóbulo izquierdo del hígado. La pared es rica en glándulas que secretan mucus, enzimas (pepsina) y ácido clorhídrico (12).

El estómago muscular o también llamado molleja se sitúa más caudalmente y también se asocia con el hígado, pero hace mayor contacto con el esternón y la porción ventral de la pared abdominal izquierda.

Suele albergar granos de arena y piedras para facilitar la trituración de los alimentos, compensando así funcionalmente la falta de dientes en las aves. Su pared muscular es más fuerte en los granívoros que en los carnívoros, y su mucosa secreta una sustancia queratinizada que la protege de los posibles daños que puede provocar la ingestión de guijarros o piedras (12).

El intestino se encuentra en el saco peritoneal ventral, ocupa la porción caudal de la cavidad corporal y establece una relación con la molleja y los órganos reproductores. Incluye el duodeno, el yeyuno, el íleon, dos ciegos y el recto. Su longitud y desarrollo dependen del tipo de alimentación, ya que es muy largo en aves herbívoras y granívoras. En el yeyuno se puede observar el divertículo vitelino, remanente del saco vitelino primitivo que nutrirá al polluelo recién nacido durante los primeros días de vida. El ciego, ausente en las psitácidas, se abre en la zona de tránsito que va del intestino delgado al intestino grueso. Su tamaño también depende del tipo de alimentación, siendo muy corto en granívoros y muy largo en herbívoros. El recto se abre hacia la cloaca, un área de encrucijada también para la boca de los conductos genital y urinario (12).

i) Aparato Respiratorio:

Se ve muy alterado por la adaptación al vuelo. Este proceso de movimiento requiere un gran esfuerzo muscular y conlleva un alto consumo de oxígeno. Por tanto, se requiere una ventilación potente y rápida.

Las fosas nasales se abren en la mphoteca dorsal del pico, ya sea en la parte córnea o en la cera (tejido cutáneo de transición rico en terminaciones nerviosas). Las cavidades nasales están separadas por un tabique nasal cartilaginoso delgado, que puede estar incompleto en sentido rostral (nariz permeable de las aves nadadoras). En los psitácidos, los senos infraorbitarios izquierdo y derecho se comunican entre sí y tienen divertículos que neumatizan gran parte del cráneo (12).

Desde las coanas (que desembocan directamente en el paladar duro) el aire pasa a la tráquea a través de la laringe, que está formada únicamente por el cartílago aritenoides y cricoides (no hay epiglotis). La glotis se encuentra en una pequeña elevación conocida como prominencia laríngea. Tampoco hay cuerdas vocales en las aves y los músculos laríngeos son muy rudimentarios. Esto se debe a que la laringe, a diferencia de los mamíferos, no interviene en la emisión de sonidos (fonación) (12).

La tráquea consta de 100 a 130 anillos de cartílago, la mayoría de los cuales están osificados. Estos anillos también están presentes en los bronquios principales. Los dos

bronquios principales penetran en el parénquima de los dos pulmones, morfológicamente muy rudimentarios. Los pulmones sólo constituyen el 11% de todo el sistema respiratorio, pero tienen un alto nivel de funcionalidad. Los dos bronquios principales se expanden (aurícula) y desde allí continúan con los mesobronquios hasta el extremo final del pulmón, donde se abren hacia los sacos de aire abdominales. Un bronquio intermedio lo conecta con el saco aéreo torácico caudal. Los sacos aéreos son extensiones extrapulmonares de paredes muy delgadas que se encuentran entre los sistemas viscerales y las paredes de la cavidad corporal (12).

Son 9 sacos aéreos que se describen normalmente: 2 cervicales, 1 interclavicular, 2 torácicos craneales, 2 torácicos caudales y 2 abdominales (el izquierdo puede canularse para obstrucción de la vía aérea superior). Aunque estas bolsas no participan directamente en el intercambio de oxígeno, actúan como fuelles, permitiendo el flujo continuo de aire a través de la superficie funcional de los pulmones. De esta forma, el aire inhalado y exhalado fluye a través del parénquima pulmonar, permitiendo un intercambio gaseoso continuo en ambas fases del ciclo respiratorio (sin espacios muertos) (12).

j) Sistema urogenital:

Los riñones están incrustados en fosas en la superficie ventral del sinsacro y los huesos ilíacos. Cada uno de ellos está dividido en tres lóbulos y no existe un límite claro entre la corteza y la médula, por lo que hay muchos cálices renales por lóbulo. Se destaca la existencia del citado sistema portal renal.

La orina es transportada por los uréteres, que discurren a lo largo del borde medial de los riñones y fluyen caudalmente hasta desembocar en la cloaca (uroceo), sin desarrollar la vejiga. Las aves excretan orina semisólida (gran parte de la absorción de agua se produce en el uroceo) rica en cristales de ácido úrico, factor importante en la tendencia a sufrir procesos de gota (12).

Respecto a los genitales masculinos, cabe destacar que los testículos se ubican intraabdominales (endorquidismo fisiológico) y se ubican cerca del polo craneal del riñón. El de la izquierda suele ser un poco más grande que el de la derecha. En especies sin dimorfismo sexual, se requiere endoscopia para distinguir el sexo.

El epidídimo se encuentra en el borde dorsomedial del testículo y el conducto deferente también desemboca en el uroceo. La temperatura óptima para la producción de espermatozoides se logra mediante el enfriamiento, que se produce mediante el contacto con los sacos de aire abdominal durante la inspiración forzada. No existen gónadas accesorias y

el órgano copulador es generalmente bastante rudimentario (papila peneana), aunque en algunas especies palmeadas alcanza una longitud de 8 cm. longitud (12).

Los órganos genitales femeninos se caracterizan por el desarrollo exclusivo del oviducto y ovario izquierdo. Durante la actividad sexual, el ovario parece un bulto debido a los numerosos folículos que surgen en su superficie. Los huevos en los folículos pronto quedarán cubiertos por capas de yema (futura yema). El oviducto cumple dos funciones: asegura que el huevo se desplace hacia la cloaca y, por otro lado, segrega sustancias que lo protegen del medio ambiente. Las partes descritas son las siguientes: infundíbulo, magno, istmo, ampolla, útero y vagina. La mayor parte de la albúmina se forma en el magnum y el istmo, mientras que la formación de las membranas de la concha tiene lugar en la ampolla, esta última se forma en el útero. La vagina es la última parte de la trompa de Falopio y separa la cutícula y el tinte específico del óvulo: su boca se encuentra en el uréter a la izquierda del lugar donde solían estar los uréteres (12).

k) Órganos de los Sentidos:

Los órganos del olfato y del gusto están poco desarrollados. En las aves, sin embargo, los sentidos del tacto, el oído y la vista son relevantes (12).

Como en los mamíferos, los órganos del tacto corresponden a cuerpos nerviosos terminales táctiles y propioceptores. Junto con la visión, es el sentido más importante a la hora de elegir los alimentos. Los cuerpos táctiles se encuentran en los bordes y la punta del pico y en la cavidad bucal. Transmiten percepciones sobre el tamaño, la forma, la dureza y la calidad de la superficie de los alimentos. El plumaje evita en gran medida que la piel experimente sensaciones dolorosas, por lo que determinadas operaciones en aves pueden realizarse sin anestesia(12).

La entrada al conducto auditivo externo es circular y está delimitada por un borde cutáneo que circunscribe el llamado disco auricular o el llamado lóbulo auricular. El canal auditivo debe estar limpio y libre de secreciones y el examen debe tener en cuenta la posible presencia de parásitos.

Respecto al sentido visual, los globos oculares se caracterizan por ser grandes y estar situados lateralmente en la mayoría de las aves. Por tanto, el campo de visión es de 280 a 360°, lo que permite ver casi todo el contorno (12).

La retina de conos y bastones tiene una fovea central compuesta casi en su totalidad por conos, no se observa reflejo pupilar consensual en las aves, debido a una decusación de las fibras de los nervios ópticos (12).

Entre los órganos accesorios cabe destacar que las aves presentan una membrana nictitante extendida (tercer párpado), que es muy móvil y se desplaza sobre la córnea en dirección dorsonasal o ventrotemporal. Protege y lubrica la córnea y la protege y lubrica gracias a la secreción de la glándula adyacente (12).

D. Fisiología

El plumaje se renueva periódicamente mediante el proceso llamado muda (la caída de la pluma es reemplaza por otro). El plumaje cambia una vez al año, esto casi siempre ocurre a finales del verano o en el otoño anterior, pero en el caso de los psitácidas es normal que se produzcan mudas durante todo el año.

Durante este tiempo, las aves pasan por un estado fisiológico de resistencia que se reduce frente a los patógenos. Esto debe ser tenido en cuenta por los veterinarios, ya que algunas especies mudan la mayor parte de sus plumas al mismo tiempo, mientras que otras lo hacen simultáneamente. Si un pájaro arranca accidentalmente una pluma, ésta se reemplaza en un corto período de tiempo. Sin embargo, si el folículo no se daña en un plazo de 1 a 4 semanas, la estructura interna del raquis permite el trasplante en plumas, que son esenciales para el vuelo (12).

E. Distribución

Sus especies habitan en bosques y selvas de regiones templadas y cálidas de Centroamérica y Norte y Centro de Sudamérica (8).

El loro cabeza roja es originario de América del Sur. Aquí, la especie se encuentra principalmente en el área entre el suroeste de Ecuador y el noroeste de Perú. Vive de forma natural principalmente en selvas, bosques y regiones desérticas con cactus, pero también se encuentra en zonas suburbanas (14).

El loro frente roja se encuentra desde el norte de Venezuela a través de las montañas hasta Perú; En Colombia se ubica en la Sierra Nevada de Santa Marta, la Serranía de Perijá, en la Cordillera Central y Occidental. La altitud está entre 350 y 2.800 m (15).

F. Habitad

Su hábitat es variable, pero necesita la presencia de árboles. En algunos casos de cautiverio, estas aves sólo necesitan un lugar abierto y con mucha vegetación, ocupando las partes superiores. Anidan en los huecos de los troncos de ceibo, polo-polo, pretino y pasallo, que generalmente se forman por la acción de otras aves, como el pájaro carpintero, por enfermedades de los árboles o por su muerte (10).

Presente en regiones de bosques húmedos de arbustos y cactus, bosques nubosos, valles interandinos, bosques secundarios, bosques de galería (15).

G. Costumbres

Estas aves generalmente viven en las ramas más altas de los árboles. De hecho, aquí es donde construyen sus nidos. Proceden de la siguiente manera:

Como ya se mencionó, eligen las ramas altas de los árboles; y prefieren buscar aquellas que tengan aberturas o agujeros. Los árboles que prefieren son: el Ceibo, el Polo Polo, también está el Pasallo y el Pretino. De hecho, sus ramas son robustas (16).

Después de encontrar el árbol, lo acondicionan, es decir, buscan ramas y hojas para contenerlo. Una vez que estén listos, anidan.

Aunque construyen sus propios nidos, también tienen la costumbre de anidar en nidos construidos por otras aves. o en agujeros formados por la acción de la naturaleza o la acción de otras aves, como el pájaro carpintero.

Además, son animales sociables. Esto significa que viven en comunidades, más precisamente en rebaños. Generalmente son muchos, ya que una bandada se compone de unos veinte o incluso cuarenta loros.

Por tanto, se desplazan por la región en grupos en busca de alimento; Lo hacen en función del momento en que florecen las diferentes flores (16).

H. Alimentación

Son aves granívoras, se alimentan de semillas. Cuando buscan comida, los loros prefieren pellets o semillas de diferentes especies. Por supuesto puedes encontrarlos en su hábitat natural.

Este grupo incluye almendros, cacumbos y palo santo, que son nativos de la región. En este sentido, la lengua, que es musculosa y además gruesa, sirve junto con el pico para romper las semillas y granos que tienen cáscara.

Pero también es capaz de absorber o digerir otro tipo de alimentos, como la fruta. Entre ellos se encuentran el mango, el charán, la sandía y la guayaba, entre otros. En ocasiones también suelen recoger tierra de las riberas de los ríos. Esto se hace para complementar su dieta con los minerales que les faltan (16).

I. Reproducción

En los loros cabeza escarlata la reproducción se da en los meses de marzo y abril. *Psittacara erythrogenys*, anida dentro de agujeros de árboles maduros, termiteros y algunos casos en acantilados, la puesta de huevos es entre 2 a 4 e incuban también de 23 a 24 días, las madres los alimentan con comida pre digerida (11).

Los loros frente roja anidan comunalmente en escarpados rocosos, entre diciembre y junio en el norte de Colombia y entre abril y junio en Venezuela. Promedio de la puesta de 3 a 4 huevos y la incubación es de 23 o 24 días. Las crías abandonan el nido después de 50 días, con un plumaje de color verde (17).

J. Estado de conservación y situación actual

De acuerdo con la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna silvestre en el año 2014, según Decreto Supremo N° 004-2014 MINAGRI de 18 de abril de ese mismo año, se publicó la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. En este Decreto, el Anexo I expone 15 especies de aves En Peligro Crítico, 29 En Peligro, 78 Vulnerable, 68 Casi Amenazadas y ninguno para Deficiente en Datos. De ellas, *Psittacara erythrogenys* aparece en la lista como especie Casi amenazado (NT).

Para Wildlife Conservation Society, el estado de conservación en Perú para esta especie es de Casi amenazado (NT), categoría de amenaza UICN Casi amenazado (NT), Apéndice CITES es CITES II.

En el Perú, el estado de conservación de *Psittacara wagleri* es No listado, la categoría de amenaza UICN es de Casi amenazado (NT), comprendido en el Apéndice CITES como “CITES II” (11). Dentro del grupo de las aves, los psitácidos son los que más sufren por su impacto como mayor demanda nacional de mascotas. Sus características los convierten en atractivo para la domesticación, por la coloración brillante de su plumaje, su inteligencia, su habilidad para imitar la voz humana, su facilidad para utilizar las patas para coger objetos como la mano y la facilidad con que pueden mantenerse en cautiverio.

En la sesión dictada en el Diplomado de Tráfico de Fauna Silvestre en el Módulo Rol de las Especies en el Ecosistema y Consecuencias de su remoción, en el ítem Aves, se reconoce entre las especies más traficadas en el Perú a las especies *Psittacara erythrogenys* (cotorra de cabeza roja) y *Psittacara wagleri* (cotorra de frente escarlata) (11). Sus poblaciones han sido afectadas por las actividades humanas como comercio y tráfico de animales silvestres, consumo de sus huevos y carne, sus derivados de picos y plumas, la alteración de sus

hábitats: por deforestación, contaminación, expansión agrícola, desertificación, sobrepastoreo e introducción de especies exóticas (11).

K. Importancia de las especies *Psittacara erythrogenys*, *Psittacara wagleri*

Las aves son una parte importante de la biodiversidad y se consideran un excelente indicador del ecosistema ya que proporcionan evidencia de la salud del medio ambiente. Contribuyen al equilibrio y mantenimiento de los flujos energéticos en los ecosistemas participando como habitantes y especialmente a través de sus hábitos alimentarios (control biológico de insectos, polinizadores, fertilización con sus desechos fecales, dispersión de semillas, etc.) (11).

2.1.3. Dimorfismo sexual

El dimorfismo sexual se define como la diferencia de forma, coloración y tamaño entre machos y hembras de una misma especie. Todas estas características permiten distinguir los llamados caracteres sexuales primarios (genitales externos) de los caracteres sexuales secundarios que no lo son son estrictamente necesarios para la reproducción, pero tienen una función determinada en la reproducción, ya que la expresión de características como el tamaño, la fuerza y el color son una serie de aspectos que juegan un papel fundamental en el éxito del proceso de 'acoplamiento'. Este conjunto de parámetros está controlado en gran medida por genes vinculados a los cromosomas sexuales; en aves, cromosomas ZW (18).

En las aves, distinguir el sexo es una tarea sencilla en ejemplares que presentan dimorfismo sexual; sin embargo, la identificación del sexo mediante rasgos morfológicos a menudo puede resultar compleja y difícil en individuos monomórficos y polluelos de la mayoría de las especies. Las metodologías tradicionales utilizadas para la determinación del sexo en aves incluyen observaciones de comportamiento, laparoscopia, laparotomía, examen de cloaca y/o análisis citogenético (18).

2.1.4. Pruebas para determinar el sexo en psitácidos

A. Endoscopia

La endoscopia se utiliza para examinar los órganos internos e identificar loros machos y hembras. Esta técnica es algo complicada porque la introducción de la endoscopia requiere una incisión en el loro, lo que provoca dolor en la muestra. (19).

B. Pruebas de ADN

Los marcadores de ADN proporcionan un método sencillo de determinación del sexo basado en diferencias específicas en determinadas secuencias genómicas entre los dos sexos (20).

La técnica se basa en la amplificación de una secuencia interna (intrón) del gen de la proteína de unión al ADN, la cromohelicasa (proteína CHD), mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) utilizando cebadores específicos. Este gen está situado en los cromosomas sexuales, llamados Z y W en las aves, y a diferencia de los mamíferos, las hembras tienen dos cromosomas sexuales diferentes –ZW–, mientras que los machos tienen dos cromosomas idénticos. - Actualmente. Esta sección de ADN, que no se traduce en proteínas, varía mucho de tamaño entre los dos sexos y puede distinguirse mediante electroforesis simple (20).

El material biológico necesario para el uso de esta técnica consta de dos a tres plumas, las más grandes y mejores, extraídas del ave con todo el cuerpo de plumas (20).

C. Palpación pélvica

Este método puede revelar el sexo del animal, pero para hacerlo de forma segura se requiere precaución y sensibilidad con el animal. Primero debemos sujetar al loro y colocarlo en posición tumbada para luego tocar los huesos de la región pélvica del loro. Si podemos ver una pequeña separación en la zona pélvica, significa que el loro es hembra, y si por el contrario están prácticamente juntos, es macho (21).

La distancia entre los huesos púbicos se siente con el dedo índice. Con esta técnica, las mujeres tienen una distancia púbica mayor que los hombres. Debido a esta distancia, las patas traseras del macho están menos separadas que las de la hembra cuando la hembra y el macho están sentados normalmente.

Un criador experimentado puede notar una diferencia entre los huesos pélvicos, que están más separados en las hembras que en los machos (4).

D. Determinación Quirúrgica

La determinación quirúrgica del sexo fue el primer método de determinación del sexo en aves y se utilizó con mayor frecuencia en loros monomorfos.

Existen dos técnicas quirúrgicas para la determinación del sexo: la laparotomía y la laparoscopia: la base de ambas técnicas es la visualización directa de los órganos sexuales

del ave y comprobar si las gónadas, los testículos o el ovario corresponden respectivamente a un macho o a una hembra.

Para realizar la determinación quirúrgica del sexo, el ave debe estar anestesiada. El procedimiento consiste en una incisión en el abdomen entre las dos últimas costillas. Esto tiene en cuenta que en los machos hay un par de testículos a cada lado de la columna, pero en las hembras solo hay un ovario funcional en el lado izquierdo de la columna, por lo que la incisión se hace en este lado del abdomen. Ambas técnicas se describen en detalle a continuación (4):

Laparotomía: la incisión es más grande para permitir la inserción de una sonda metálica que se puede usar para mover los intestinos y examinar las gónadas, ubicadas cerca de la columna y debajo de la caja torácica.

Laparoscopia: Esta técnica es más sofisticada, requiere de una incisión más pequeña por la que se introduce una sonda por la que se introduce gas CO₂ para que los órganos se separen de la pared abdominal y sea más fácil su observación. A través de esta incisión se introduce un dispositivo que consta de una fuente de luz fría para evitar quemaduras en los intestinos y un sistema de lentes llamado endoscopio que permite una mejor visualización (4).

Las ventajas de ambas técnicas son su validez para todas las especies de aves y su 100% de fiabilidad para la visualización directa de las gónadas. Por otro lado, las desventajas son el riesgo quirúrgico que existe tanto por la anestesia como por el procedimiento en sí, el estrés que esto genera en el animal. En aves pequeñas que pesan sólo unos pocos gramos, la técnica es más difícil debido a la escala del procedimiento quirúrgico. Asimismo, en ejemplares jóvenes la diferenciación gonadal no es posible y en animales obesos la visualización es difícil debido a los depósitos de grasa (4).

E. Determinación por cariotipo o análisis cromosómico

Para este análisis se requiere una pluma con sangre del ave. Luego, este tejido pulpar se cultiva en un cultivo de células vivas durante 7 a 9 días. Una vez que las células han aumentado en número, se tiñen con una preparación concentrada de un compuesto llamado colchicina, que detiene el ciclo celular cuando los cromosomas se curvan y se vuelven más visibles. Luego se toman hisopos para examinarlos y comparar sus características en términos de tamaño, forma, posición centromérica y cualidades de tinción (4).

F. Sexaje por niveles hormonales

Esta técnica mide los esteroides sexuales en las heces, los desechos de óvulos o el plasma para determinar el sexo y evaluar la actividad funcional de los órganos reproductivos. La desventaja de esta técnica es que no es posible determinar el sexo de aves inmaduras o con baja actividad gonadal (4).

G. Determinación por comportamiento

Tradicionalmente, muchas especies en cautiverio se observan patrones de comportamiento entre individuos, tales como: Aseo y alimentación, el macho suele cuidar y alimentar a la hembra. Sin embargo, si la pareja está formada por ejemplares del mismo sexo, normalmente uno asume el papel dominante y, por tanto, crea una falsa impresión (4).

H. Determinación por tamaño y color

En los loros adultos, el macho es generalmente más grande que la hembra, especialmente si se considera el tamaño de la cabeza. Si hablamos de colores, los colores más vivos y brillantes suelen pertenecer al macho, al igual que en el indicador anterior, se deben tener en cuenta otros métodos de detección para tener cuidado (21).

Según criterios tradicionales, en cautiverio las aves más pequeñas corresponderían a las hembras y los machos serían los individuos de mayor tamaño. Sin embargo, esto no es seguro porque existe confirmación a partir de la determinación quirúrgica del sexo y estos no coinciden con las hipótesis (4).

I. Determinación por colocación de huevos

Al ser animales ovíparos, se reproducen con huevos puestos por la hembra. Cuando el loro tiene 2 años se puede saber su sexo comprobando si pone huevos o no, estén o no fecundados (4).

2.1.5. Coopúsculo de Barr

Los Corpúsculos o cuerpos de Barr son una masa condensada de cromatina sexual, presente en el núcleo de las células somáticas femeninas, debido a un cromosoma X inactivo(22). Generalmente se observa fácilmente durante el período de la interfaz mitótica.

Muchos científicos atribuyen esta elevada concentración de heterocromatina a la inactivación de uno de los dos cromosomas X. Esta región se tiñe intensamente en los análisis citológicos debido a la gran cantidad de heterocromatina que contiene (23).

Barr y Ewart George Bertram demostraron en 1923 que es posible determinar genéticamente el sexo de determinados individuos en función de si hay mucha cromatina en la superficie interna de la membrana nuclear (cromatina sexual) (24).

A. Antecedentes

En la década de 1940, Murray Barr y su colega Ewart Bertram describieron la presencia de una masa de cromatina condensada en los núcleos celulares de las gatas y su ausencia en los gatos macho, por lo que plantearon la hipótesis de que el cuerpo de Barr representaba un cromosoma X condensado las cuales se las denominó corpúsculo de Barr (24).

En 1999, Mary Lyon propuso que este corpúsculo de Barr representa un cromosoma X inactivo que, en las hembras se enrolla de forma compacta y adopta la estructura conocida como heterocromatina, una forma de cromatina condensada y, por tanto, visible. Estudios microscópicos recientes muestran que los extremos del cuerpo de Barr están muy juntos y forman un anillo (25).

B. Características y estructura

El corpúsculo de Barr también se llama cuerpo de Barr o heterocromatina sexual. Es un elemento que tiene una forma circular, planar-convexa cuando se observa bajo un microscopio óptico y tiene una longitud de aproximadamente una micra. (23).

Los corpúsculos de Barr, al estar compuestos de ADN heterocromatina, se tiñen más intensamente que el ADN eucromatina, que está “expandido” y disperso dentro del núcleo celular.(23).

El corpúsculo de Barr está compuesto por heterocromatina facultativa, es decir, este ADN se expresa en determinados momentos y en otros no. Cuando el ADN del cromosoma X "activo" o eucromático es defectuoso, el ADN del corpúsculo de Barr puede volverse eucromático para compensar estos defectos.

En una célula somática promedio, el corpúsculo de Barr está ubicado en el lado interno del núcleo, y en los primeros informes de Barr sobre el corpúsculo, esta estructura se denomina "satélite nuclear"(23).

Barr al profundizar en sus investigaciones, encontró a excepción de las células del tejido del hígado y el páncreas, se encontraban en las células de todos los tejidos de las hembras. (23).

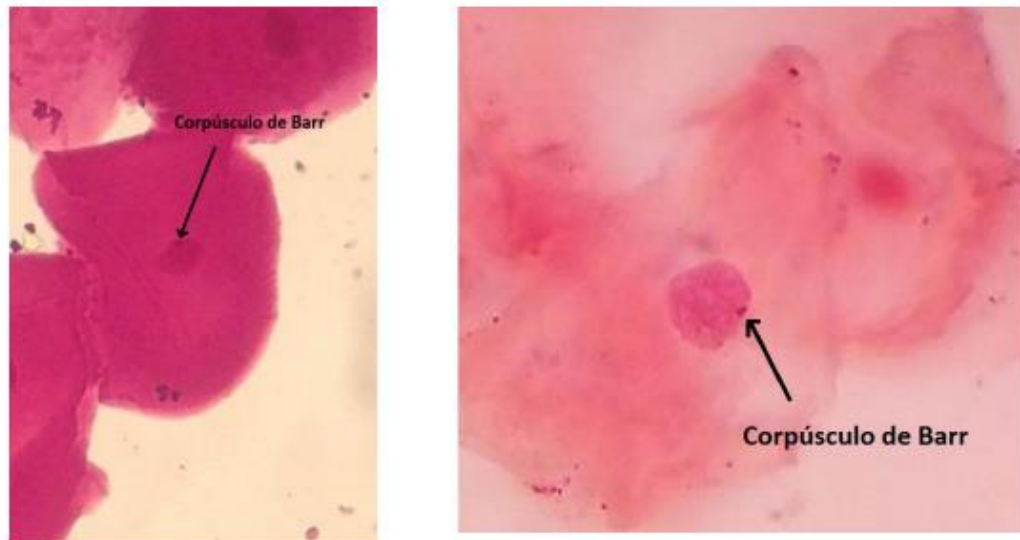


Figura 7. Visualización del Corpúsculo de Barr en la mucosa bucal. Fuente: Martínez, 2016

C. Tinciones utilizadas para la visualización

Por lo general, se utilizan hematoxilina y eosina para teñir esta estructura, que son compuestos que tiñen los núcleos celulares de azul, violeta oscuro o negro (23).

Los cuerpos de Barr se pueden teñir con una variedad de colorantes como tionina, hematoxilina, verde de metilo y utilizando la técnica de Feulgen y posterior hidrólisis ácida. El método más sencillo y más utilizado es el frotis de mucosa, que se obtiene raspando suavemente la mucosa oral, se unta en el portaobjetos del microscopio y luego se tiñe. Normalmente se analizan entre 50 y 100 células bajo el microscopio porque la cromatina X es menos común en este tipo de tejido. (26).

D. Formación del corpúsculo de bar

Se forman por equilibrio genético, que se produce a través de la diferencia entre dos alelos en el cromosoma sexual femenino (CsexH) y un solo alelo en CsexM, que se inactiva como resultado del proceso llamado lionización (proceso que resulta en uno de los crear copias). En los animales, donde el sexo está determinado por la presencia del cromosoma Y, el cromosoma X presente en las hembras de los mamíferos está inactivado.

La inactivación del cromosoma X de los mamíferos comienza en un área cercana al centrómero. Esta región contiene doce genes, siete de los cuales codifican proteínas y cinco ARN no traducidos (sólo se conoce el papel de dos de ellos en la inactivación cromosómica). Esta región también parece ser crucial para la toma de decisiones, es decir, asegura que la inactivación cromosómica sólo se produzca cuando dos o más cromosomas X están presentes en la célula.

Se cree que el mecanismo de selección depende de la acción antagónica de los dos ARN que no están traducidos ni codificados en la región cercana al centrómero.

Para lograr la condensación cromosómica son necesarias modificaciones de histonas (metilaciones H3), ubiquitinación de la histona H2A y modificaciones directas del ADN mediadas por metilaciones de regiones CpG⁴. Todas estas modificaciones contribuyen a la inactivación de los cromosomas de expresión. Genes del cromosoma X, para que se realice su condensación y compactación hasta la formación del cuerpo de Barr. Debido a que es tan compacto, es decir, está rodeado de proteínas, la mayoría de los genes de este cromosoma no se expresan. (27).

Durante el proceso de formación del feto femenino, las células del feto "cuentan" el número de cromosomas que tienen e inactivan uno (formando un cuerpo de Barr) al azar. Por lo tanto, algunas células femeninas tienen un cromosoma X activado y otras células tienen el otro cromosoma X activado (27).

E. Determinación sexual

La determinación de género es una de las claves del proceso de identificación. Un método histológico útil para la determinación del sexo es la observación de la cromatina de Barr o del cuerpo de Barr (28).

El cuerpo de Barr está situado en el núcleo de las células somáticas femeninas, concretamente en la superficie interna de la membrana nuclear, y es visible durante la interfase del ciclo celular (29).

El cuerpo de Barr obedece a la "regla (n-1)", que establece que el número de cuerpos de Barr en una célula es igual al número de cromosomas X que tiene la célula (n) menos 1 (30).

La cromatina sexual o Barr es una condensación de cromatina presente en el núcleo de las células de los individuos femeninos. Su observación es posible en diferentes tipos celulares y permite un diagnóstico rápido del sexo biológico (31).

El estudio de la cromatina sexual, especialmente de las células de la mucosa oral, permite identificar la presencia del cromosoma X para obtener el diagnóstico del sexo en un espécimen. A través de su aplicación, se descubrió que las células femeninas son "cromatina positiva" mientras que las células masculinas son "cromatina negativa".

Según la hipótesis de Lyon (propuesta por Mary Lyon en 1966), uno de los dos cromosomas X de cada célula del cuerpo femenino es genéticamente inactivo. El cuerpo de Barr representa el cromosoma X inactivo y, por tanto, determina 4 principios de la cromatina sexual:

- La cromatina sexual es genéticamente inactiva
- La desactivación se produce aleatoriamente
- La inactivación puede localizarse en el cromosoma paterno o materno.
- La inactivación ocurre el día 16 del período embrionario (27)

2.1.6. Coloración

a) *Fuelgen*

La reacción de Feulgen, descrita por primera vez por Robert Feulgen, es uno de los métodos citoquímicos más utilizados para la determinación semicuantitativa de ADN en muestras histológicas y citológicas. La Clínica Universidad de Navarra señala que esta técnica consiste en la hidrólisis del ADN mediante una dilución débil de ácido clorhídrico, que libera las bases purínicas, que liberan los radicales aldehídos de las pentosas, y en la tinción con leucofusina, que elimina los grupos aldehídos hacerlo visible.

Resultados:

- Núcleo – rojo rosado (magenta).
- Citoplasma y otros elementos: sin pigmentar ni teñir (si no se utilizó el agente de contraste Fast Green F.C.F); verde si se utilizó este reactivo (32).

b) *Azul de Toluidina*

El azul de toluidina es un colorante acidófilo y metacromático que pertenece al grupo de las tiazidas. Su propiedad más importante es que tiñe selectivamente los componentes ácidos del tejido, como los radicales sulfato y fosfato, que se incorporan al ADN y al ARN de las células (33).

Resultados:

- Núcleos: azules
- Carbohidratos: azul o púrpura.
- Citoplasma, ARN: azul o verde brillante

2.1.7. ADN

Es la molécula de la vida, codifica la información característica de diversos seres vivos, a través de este código se regula la función de cada tipo celular, se puede controlar la transmisión de información, coordina la compleja red de interacciones entre la función del tejido y la célula y su propio control de replicación, reparación y autorregulación (29).

Cromosomas en las aves

En las aves, la hembra tiene dos cromosomas sexuales diferentes (ZW), mientras que en el macho es el mismo (ZZ), por lo que los machos sólo tienen el gen correspondiente al cromosoma Z, mientras que las hembras también tienen este gen correspondiente al cromosoma Z W, que distingue claramente ambos géneros (34).

Los cromosomas sexuales Z y W de las aves evolucionaron de manera diferente a los cromosomas X e Y de otros grupos de animales, porque evolucionaron a partir de pares autosómicos diferentes.

Durante este proceso, el cromosoma W perdió muchos de sus genes y se redujo de tamaño (en muchas aves, el cromosoma W se considera una versión degradada del cromosoma Z); Sin embargo, el cromosoma Z no cambió el contenido genético. Aunque el cromosoma W es específicamente femenino, tiene una estructura similar al cromosoma Y, excepto por la pobre estructura genética, su pequeño tamaño y su riqueza en heterocromatina y secuencias repetidas. A pesar de la gran cantidad de cromosomas en las aves (la mayoría de las especies tienen más de 70 cromosomas), los cromosomas sexuales generalmente son fáciles de distinguir entre sí debido a sus diferentes tamaños.

El cromosoma Z pertenece al grupo de los cromosomas grandes (macro cromosomas). Por el contrario, el cromosoma W es uno de los cromosomas más pequeños, llamados micro cromosomas, y se caracteriza por su riqueza en heterocromatina y la presencia de ADN repetitivo de tipo satélite. Ambos cromosomas contienen una pequeña región pseudoautosómica, es decir, secuencias que se recombinan durante la meiosis (18).

Sexaje en aves

Es la amplificación de una secuencia GM CHD por PCR, es un acrónimo en inglés de reacción en cadena de la polimerasa, este gen se encuentra en los dos cromosomas sexuales, en el caso de las aves se llaman Z y W, las aves hembra tienen dos cromosomas ZW diferentes, pero los machos tienen dos cromosomas ZZ idénticos (2).

Importancia

El sexado por ADN no es un método invasivo como la laparotomía. Lo único que necesitas es un poco de sangre como muestra, aunque también se puede utilizar una pluma. Funciona en casi todas las especies de aves, a excepción de los avestruces (rattis) y algunas aves rapaces. Se pueden sexar aves de cualquier edad, incluso embriones (35).

2.2. Antecedentes investigación

2.2.1. Análisis de tesis

Valencia Pacheco, Javier (4). Sexado mediante morfometría corporal, validado por el análisis de ADN en agapornis spp., Arequipa 2018, Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú.

Su objetivo fue relacionar la morfometría corporal con el sexo en los Agapornis (Agapornis spp), mediante las medidas morfométricas y el peso, comparándolo con la prueba de laboratorio del GEN CROMO HELICASA ADN – CHD, se llegó a la conclusión que las características morfométricas si influyen en el sexado de agapornis. Este trabajo es importante porque valida una de las variables del proyecto como son los exámenes moleculares de ADN como pruebas comparativas, además que el trabajo es realizado en una especie de psitácidos, donde también se busca una forma rápida y no dañina para los animales.

2.2.2. Análisis de trabajos investigativos

Matta Camacho, Nubia, et al. (2). Determinación de sexo en aves mediante herramientas moleculares, Acta Biológica Colombiana, Bogotá – Colombia.

En la revisión bibliográfica tiene como objetivo determinar el sexo de las aves tempranamente, presentando las metodologías utilizadas para el sexaje de aves, haciendo énfasis en las pruebas moleculares, llegando a la conclusión que estas metodologías brindan información valiosa y exacta del sexo del animal. La importancia de este trabajo se da en el desenvolvimiento del tema que aborda una de las variables de este estudio, la metodología, ventajas y limitaciones son relevantes en el proyecto.

Novato Ramos, Carine, et al (3). Sexing as a tool for reinsertion of Amazona aestiva parrots to nature: use of less invasive technique, Research, Society and Development, Brasil.

El objetivo del trabajo es comparar la efectividad de tres cebadores en el sexado molecular de las aves, en 10 animales utilizando muestras de sangre para la extracción del ADN, dando como conclusión que la electroforesis en gel de agarosa es la forma más rápida y económica de estos tres métodos para el sexado aviar. La importancia en el presente proyecto se en la variedad de formas para realizar el sexado aviar, buscando la forma más eficaz, rápida y económica para este procedimiento.



CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Localización del Trabajo

Localización Espacial: La toma de muestras de las especies previamente especificadas, se realizará en el Parque Albergue Zoomundo, ubicado en el Balneario de Jesús, S/N Paucarpata – Arequipa.

Localización Temporal: El tiempo que se tomará para realizar la investigación es entre los meses de Julio a diciembre.

3.1.2. Materiales Biológicos

- 12 psittacaras (loros cabeza roja y loros frente roja)

3.1.3. Materiales de Laboratorio

- Tinción de Feulgen
- Tinción con azul de toluidina
- Microscopio óptico
- Portaobjetos

3.1.4. Material de Campo

- Alcohol
- Algodón
- Guantes
- Abre picos
- Hisopos
- Mantas - Toallas
- Mallas de captura

3.1.5. Equipos y Materiales

- Pruebas de ADN

3.1.6. Otros Materiales

- Ficha De Registro
- Útiles de escritorio

3.2. Métodos

3.2.1. Muestreo

Universo: El universo del estudio se va tomar en cuenta a las psittacaras del aviario del Parque Albergue Zoomundo

Tamaño de Muestra: El muestreo probabilístico será estudiado en dos especies de psittacaras.

- Criterios de Selección
 - Psittacaras entre adultos y jóvenes
 - Psittacaras clínicamente sanos
- Criterios de Exclusión
 - Psittacaras enfermos

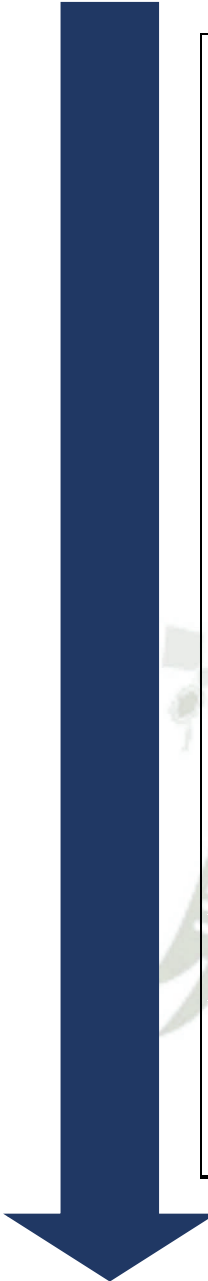
3.2.2. Métodos de evaluación

- Metodología de la Experimentación
 - **Captura y sujeción de las aves**
 1. Con la ayuda de los cuidadores, se realizará la captura de las aves empleando mallas de captura.
 2. Con una manta o toalla se cubrirá los ojos para reducir la visibilidad del ave, con el fin de evitar el estrés por la manipulación.
 3. Sujetar con una sola mano al ave, se debe asegurar la parte de atrás de la cabeza para controlar el pico y apoyar el cuerpo con el resto de la mano. (36)
 4. La técnica de sujeción consta en agarrar con firmeza alrededor del cuello, con el pulgar y el índice debajo de la mandíbula para evitar que el ave pueda picar. (37)
 - **Toma de muestras**
 1. Con la ayuda de un abre picos, recolectará la muestra de la mucosa oral con un citocepillo, se tomará 4 muestras de cada uno de los loros cabezas rojas y loros frente roja en aproximadamente 2 minutos por cada ejemplar.
 - **Tinción de Feulgen**
 2. Realizar el frotis de la mucosa oral sobre un portaobjetos
 3. Colocar el portaobjetos en metanol por 10 minutos

4. Colocar el reactivo de Schiff durante 20 min y lavar con agua destilada.
 5. Colocar orseina en la lámina porta objetos, y calentarla con un mechero, esperar 12 minutos y lavar con agua destilada.
 6. Observar al microscopio. (35)
- **Tinción con azul de toluidina**
 1. Realizar el frotis de la mucosa oral sobre un portaobjetos
 2. Colocar el portaobjetos en metanol por 10 minutos
 3. Sumergir la lámina portaobjetos en un vaso coplin con azul de toluidina al 5% por 8 minutos, lavar con agua destilada.
 4. Observar al microscopio (38)

3.2.3. Recopilación de Información

Mediante una solicitud dirigida al encargado/ dueño del Parque Albergue Zoomundo Arequipa, se pedirá el permiso correspondiente para realizar el proyecto con los animales de las instalaciones, a su vez se explicará la importancia y beneficios que trae este proyecto a favor de los animales albergados. Una vez concedido el permiso se podrá fijar las fechas para realizar el estudio correspondiente y tomar las muestras para el estudio.



1ª semana	Coordinación para la toma de muestras
2ª semana	
3ª semana	Ubicación de especímenes
4ª semana	Identificación de especímenes
5ª semana	Toma de muestras sector aviario 1
6ª semana	Toma de muestras sector aviario 2
7ª semana	Toma de muestras sector aviario 3
8ª semana	Procedimiento de muestras mediante tinción con azul de Feulgen
9ª semana	Procedimiento de muestras mediante tinción con azul de toluidina
10ª semana	Observación mediante microscopio de los las muestras
11ª semana	Matriz y tabulación de resultados
12ª semana	Corroboración de resultados mediante pruebas de ADN

Figura 8. Esquemización de la metodología

Fuente. Elaboración Propia.

3.3. VARIABLES DE RESPUESTA

- **Variables Independiente:** Tinciones microscópicas y pruebas de ADN.
- **Variable dependiente:** Sexo (hembra/ macho)

Variable	Definición	Indicadores	Instrumentos
Variable independiente			
Tinciones Microscópicas	Pruebas citológicas para la observación de células.	Visualización del corpúsculo de Barr (Hembras)	Tinción de Feulgen
			Tinción con azul de toluidina
Prueba ADN	Método que determina si un individuo posee regiones Z y W	Observación de regiones Z y W	Sexado de aves mediante ADN
Variable dependiente			
Especie	Psitácidos	Loros cabezas rojas Loros frente rojas	Ficha de registro

Figura 9. Operacionalización de variables

Fuente. Elaboración Propia.

3.4. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

3.4.1. Diseño Experimental

- **Unidades Experimentales**

Loros cabezas rojas

Loros frente rojas

• **Distribución de Tratamientos**

Para el análisis estadístico se utilizará el programa SPSS versión 26, donde se hará el análisis de los datos descriptivo e inferenciales, por lo tanto, se aplicará una prueba de normalidad y en base a su resultado una prueba de T de student o U de mamnwitney, para el respectivo análisis comparativo.

Loros cabeza roja		Loros frente rojas	
Feulgen	Azul de Toluidina	Feulgen	Azul de Toluidina
6	6	6	6

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

T-student

Es un modelo que se una en el campo estadístico con el propósito de la primera vez de una población distribuida normalmente cuando el tamaño de nuestra muestra es pequeño y también cuando no se conoce la desviación estándar.

$$t = \frac{X - \mu}{s/\sqrt{n}}$$

Prueba Kappa de Cohen

Es una medida que se basa en comparar la concordancia esperada en un conjunto de datos.

$$K = (Co - Ca) / (1 - Ca)$$

- Análisis de significancia

Nivel de significancia: 0.05.



CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Tabla 1

Resultados de Análisis de ADN

Código		Especie	Resultado	
A-5940	P1	<i>Psittacara erythrogenys</i>	CHD-Z	Macho
A-5941	P2	<i>Psittacara wagleri</i>	CHD-W	Hembra
A-5942	P3	<i>Psittacara wagleri</i>	CHD-Z	Macho
A-5943	P4	<i>Psittacara erythrogenys</i>	CHD-Z	Macho
A-5944	P5	<i>Psittacara wagleri</i>	CHD-Z	Macho
A-5945	P6	<i>Psittacara wagleri</i>	CHD-Z	Macho
A-5946	P7	<i>Psittacara erythrogenys</i>	CHD-W	Hembra
A-5947	P8	<i>Psittacara wagleri</i>	CHD-W	Hembra
A-5948	P9	<i>Psittacara erythrogenys</i>	CHD-W	Hembra
A-5949	P10	<i>Psittacara erythrogenys</i>	CHD-W	Hembra
A-5950	P11	<i>Psittacara wagleri</i>	CHD-Z	Macho
A-5951	P12	<i>Psittacara erythrogenys</i>	CHD-Z	Macho

Los resultados observados en la tabla se refieren al análisis de laboratorio de ADN, en los resultados se puede observar el gen CHD-Z por lo que se concluye que el espécimen es macho, a su vez si se observa el gen CHD-W el resultado se toma como hembra.

Tabla 2
Resultados de Análisis Tinciones Citológicas

Código	Especie	Aviario	Identificación	Resultados			
				T. Azul de Toulidina		T. Feulgen	
				Hembra	Macho	Hembra	Macho
P1	<i>Psittacara erythrogenys</i>	1	Pata derecha azul		x		x
P2	<i>Psittacara wagleri</i>	1	Pata izquierda azul	x		x	
P3	<i>Psittacara wagleri</i>	1	Pata derecha rosado		x		x
P4	<i>Psittacara erythrogenys</i>	1	Pata izquierda rosado		x		x
P5	<i>Psittacara wagleri</i>	1	Pata derecha verde		x		x
P6	<i>Psittacara wagleri</i>	1	Pata izquierda verde		x		x
P7	<i>Psittacara erythrogenys</i>	2	Pata derecha azul	x		x	
P8	<i>Psittacara wagleri</i>	2	Pata izquierda azul	x		x	
P9	<i>Psittacara erythrogenys</i>	2	Pata derecha rosado	x		x	
P10	<i>Psittacara erythrogenys</i>	2	Pata izquierda rosado	x		x	
P11	<i>Psittacara wagleri</i>	2	Pata derecha verde		x		x
P12	<i>Psittacara erythrogenys</i>	2	Pata izquierda verde		x		x

Cada espécimen fue identificado en campo y se le asignó un código para su registro, los resultados se dieron con la visualización del corpúsculo de Barr en caso de las hembras, al ser dos diferentes tinciones se tabulo de manera separada los resultados que se iban dando de acuerdo al procesamiento de las muestras

HEMBRA

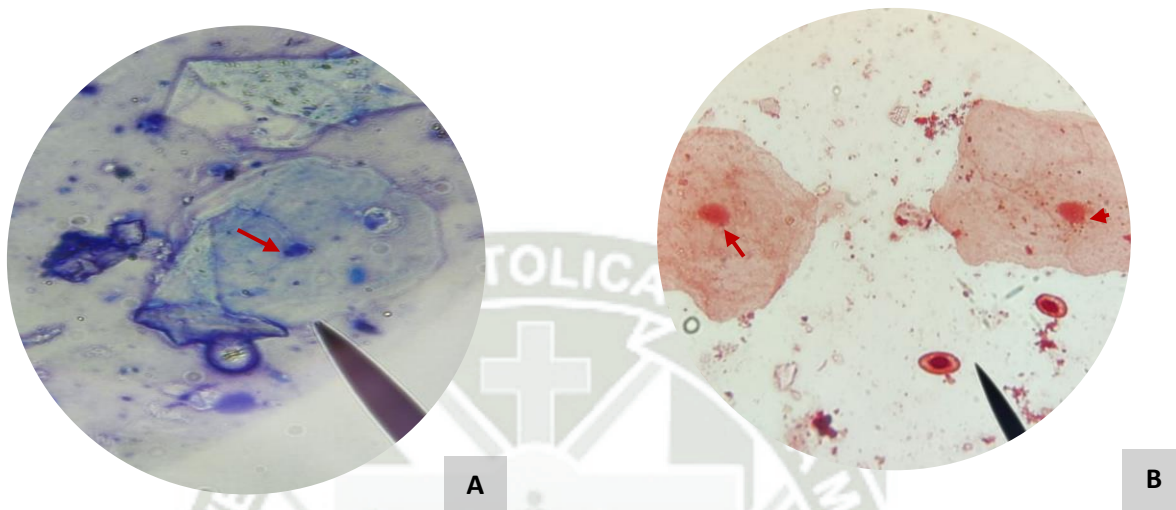


Figura 11. Tinción de Toluidina y tinción de Feulgen (Hembra).

La imagen A corresponde a la tinción de Azul de Toluidina y la imagen B a la tinción de Feulgen, se observa célula epitelial de la mucosa bucal en la periferia del núcleo el corpúsculo de Barr (punto más oscuro al extremo del núcleo, señalado con una flecha rojo) que se encuentra presente solo en hembras.

MACHO

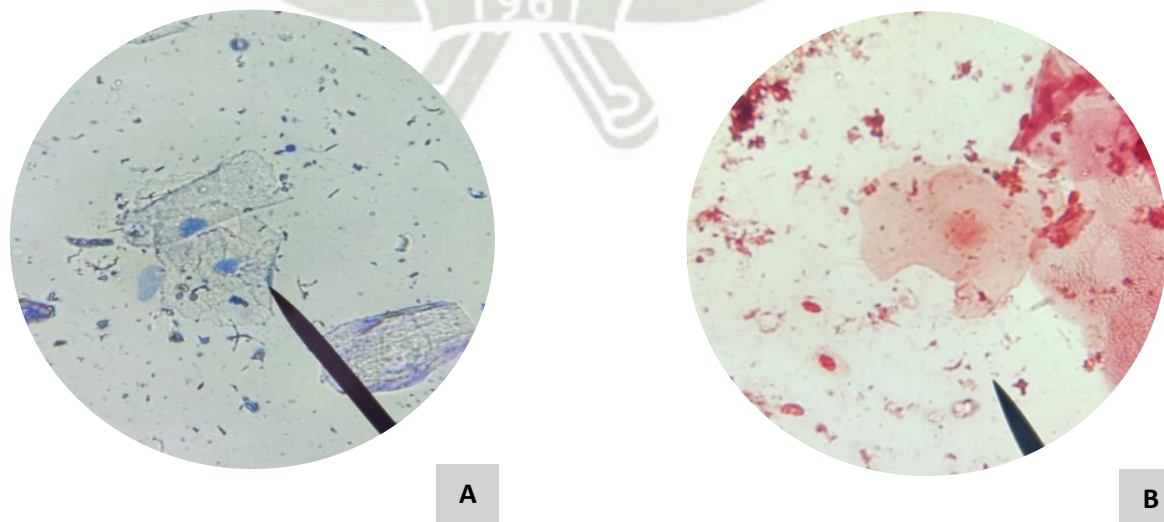


Figura 12. Tinción de Toluidina y tinción de Feulgen (Macho).

La imagen A corresponde a la tinción de Azul de Toluidina y la imagen B a la tinción de Feulgen, se observa células epiteliales planas de la mucosa bucal, se puede observar el núcleo (Punto más oscuro en el interior de la célula).

Tabla 3

Comparación entre ADN y Prueba de tinción

			Prueba de tinción		Total
			Macho	Hembra	
ADN	Macho	<i>f</i>	7	0	7
		%	58.3%	0.0%	58.3%
	Hembra	<i>f</i>	0	5	5
		%	0.0%	41.7%	41.7%
Total	<i>f</i>	7	5	12	
	%	58.3%	41.7%	100.0%	

Tabla 4

Medidas simétricas

		Valor	Error estándar asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Nominal por Nominal	Coefficiente de contingencia	0.707			0.001
Medida de acuerdo	Kappa	1.000	0.000	3.464	0.001
N de casos válidos		12			

Para comparar el sexaje por prueba de tinción con los resultados de ADN, se utilizó el índice de concordancia de Kappa, ya que permite medir la extensión en que los resultados producidos por dos técnicas diferentes son iguales entre sí, es decir, establece el grado de comparación entre dos pruebas y determina si producen resultados lo suficientemente comparables.

Se evaluó 12 especímenes de los cuales observamos 7 machos y 5 hembras, las pruebas de ADN y las tinciones citológicas, mostraron resultados iguales; dando una valoración casi perfecta en la magnitud de la concordancia. Se puede decir que ambas pruebas en el sexaje de aves son igual de exactas para este procedimiento.

4.2.DISCUSIÓN

Con el presente trabajo de investigación se logró verificar que ambas tinciones citológicas sirven para la identificación el sexo en psittacaras de un zoológico de Arequipa y se corroboró mediante pruebas de ADN su exactitud. Al evaluar 12 especímenes de los cuales observamos 7 machos y 5 hembras, las pruebas de ADN y las tinciones citológicas, mostraron resultados iguales.

Estos resultados son similares a los de Matta Camacho, Nubia, et al. (2) que busco determinar el sexo de las aves tempranamente, presentando las metodologías utilizadas para el sexaje de aves, haciendo énfasis en las pruebas moleculares, llegando a la conclusión que estas metodologías brindan información valiosa y exacta del sexo del animal. Y al igual que Novato et al. (3) en su trabajo de investigación buscó comparar la efectividad de tres cebadores en el sexado molecular de las aves, en 10 animales utilizando muestras de sangre para la extracción del ADN, dando como conclusión que la electroforesis en gel de agarosa es la forma más rápida y económica de estos tres métodos para el sexado aviar.

Se puede reafirmar que las pruebas de ADN son las más exactas en cuanto a la presión del sexo del animal, a pesar de ello, sigue siendo una prueba costosa y conlleva un tiempo considerable para esperar los resultados, sin embargo, como se menciona hay diferentes formas para la extracción de ADN, mediante la punción venosa; otro método es la extracción de las plumas de los especímenes, todos estos métodos son aceptables y confiables en la determinación del sexaje de aves.

De todos modos, para una mayor eficacia en los procesos se busca nuevos métodos para la determinación del sexaje en aves, donde debe de primar el bajo costo y la rapidez de la prueba, así como evitar y tener el menor tiempo posible sometido a los animales a episodios de estrés. Valencia (4) logro relacionar la morfometría corporal con el sexo en los Agapornis (*Agapornis spp*), mediante las medidas morfométricas y el peso, comparándolo con la prueba de laboratorio del GEN CROMO HELICASA ADN – CHD, se llegó a la conclusión que las características morfométricas si influyen en el sexado de agapornis. De igual manera las tinciones citológicas han demostrado la misma eficacia para determinar el sexaje en aves, en esa misma línea fueron validadas en mediante pruebas de ADN, estas pruebas demostraron una ventaja en su costo y tiempo para tener una interpretación en los resultados. De igual manera la manipulación de las aves es mínima, ya que la obtención de las muestras citológicas bucales es mediante un raspado, la cual se obtiene rápidamente con

una buena sujeción del animal evitando el estrés, es influyente seguir la metodología descrita para la obtención de muestras útiles en la determinación del sexaje en aves.

Los frotis bucales obtenidos en el trabajo de investigación fueron trabajados mediante la metodología de la tinción de azul de toluidina y la tinción de feulgen, para la determinación sexual del ave se busca la observación del núcleo y encontrar en su periferia el corpúsculo de Barr en caso de las hembras, sin embargo, es preciso destacar que a la visualización de las láminas de trabajo se encontró gran cantidad de células anucleadas, lo cual lo podemos atribuir a la descamación celular, no obstante la visualización de este tipo de células no interfiere en la interpretación de los resultados para el sexaje en las psittacaras.

Al llevar a cabo la investigación se tuvieron limitaciones en la literatura, la información con respecto a la visualización del corpúsculo de bar en aves es escasa, sin embargo, la información encontrada fue adaptada para su uso en este estudio. Es relevante mencionar que para realizar este trabajo fue necesario seguir las normas establecidas para la protección y preservación de la fauna silvestre, por lo que se tuvo que solicitar autorización a las autoridades competentes. Con relación a la obtención de reactivos para realizar la metodología en las tinciones utilizadas en este estudio, llevo un tiempo de espera en la encomienda, esta dificultad es compensada en la cantidad del reactivo que se utiliza para trabajar en cada muestra, por lo que se puede trabajar gran cantidad de láminas.

Liza (39) obtuvo el 100% de compatibilidad en la estandarización de una prueba para la determinación del sexo en guacamayos mediante un kit de extracción de ADN y comparado con una prueba de ADN genómico, al igual que el presente proyecto se busca comparar la efectividad de otras pruebas de sexaje en aves psitácidas con pruebas convencionales como es el ADN genómico.

Es importante resaltar la problemática y la importancia del sexaje en aves psitácidas, sin causar estrés en los animales; Betancur, (1) en su trabajo de investigación mediante la aplicación de herramientas moleculares y pruebas citogenéticas, obtuvo una eficiencia de 83% de las pruebas PCR y 78% en pruebas citogenéticas, llegando a la conclusión que las pruebas moleculares son más eficaces, además que no son invasivas en los animales, sin embargo, se destaca el costo elevado para la realización de las pruebas de PCR, porque lo que busca otros métodos de sexaje aunque estos no tuvieron una porcentaje de efectividad alto, con respecto al ADN.



CAPÍTULO V

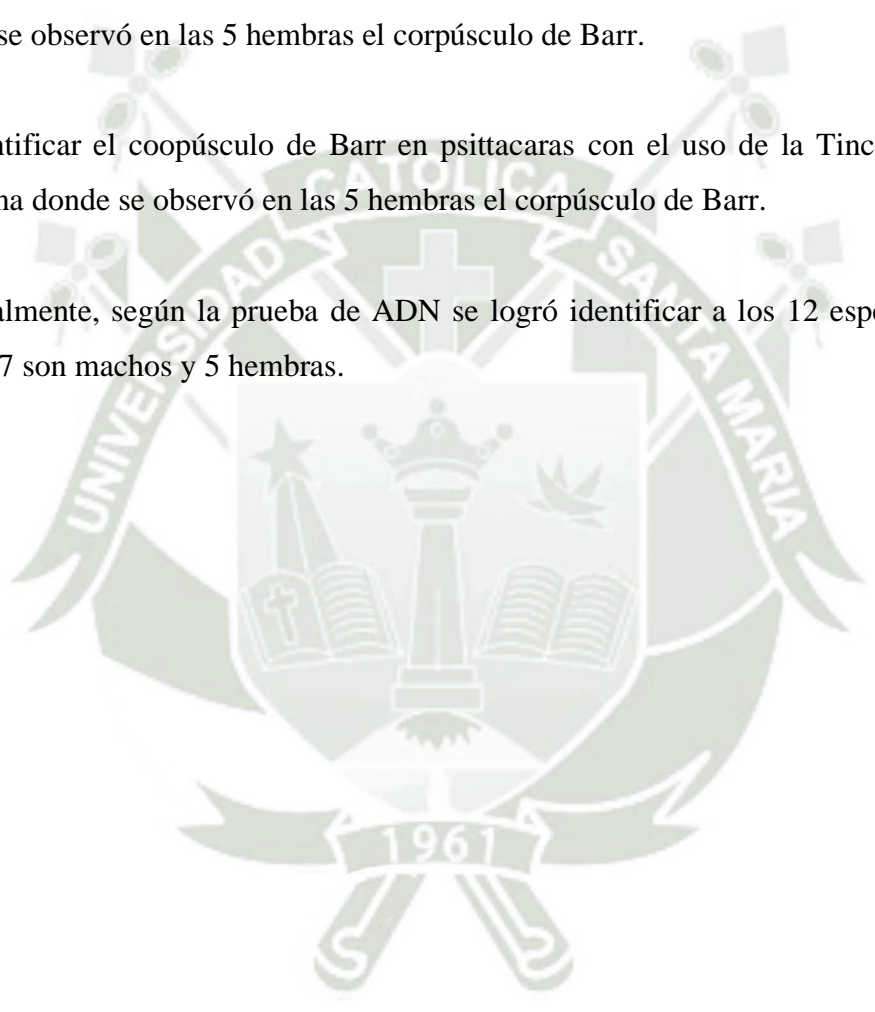
5. CONCLUSIONES

Se evaluó 12 especímenes de los cuales observamos 7 machos y 5 hembras, las pruebas de ADN y las tinciones citológicas, mostraron resultados iguales; dando una valoración casi perfecta en la magnitud de la concordancia. Se puede decir que ambas pruebas en el sexaje de aves son igual de exactas para este procedimiento.

Se identificó el corpúsculo de Barr en psittacaros con el uso de la Tinción de Feulgen, donde se observó en las 5 hembras el corpúsculo de Barr.

Identificar el corpúsculo de Barr en psittacaros con el uso de la Tinción con azul de toluidina donde se observó en las 5 hembras el corpúsculo de Barr.

Finalmente, según la prueba de ADN se logró identificar a los 12 especímenes de los cuales 7 son machos y 5 hembras.





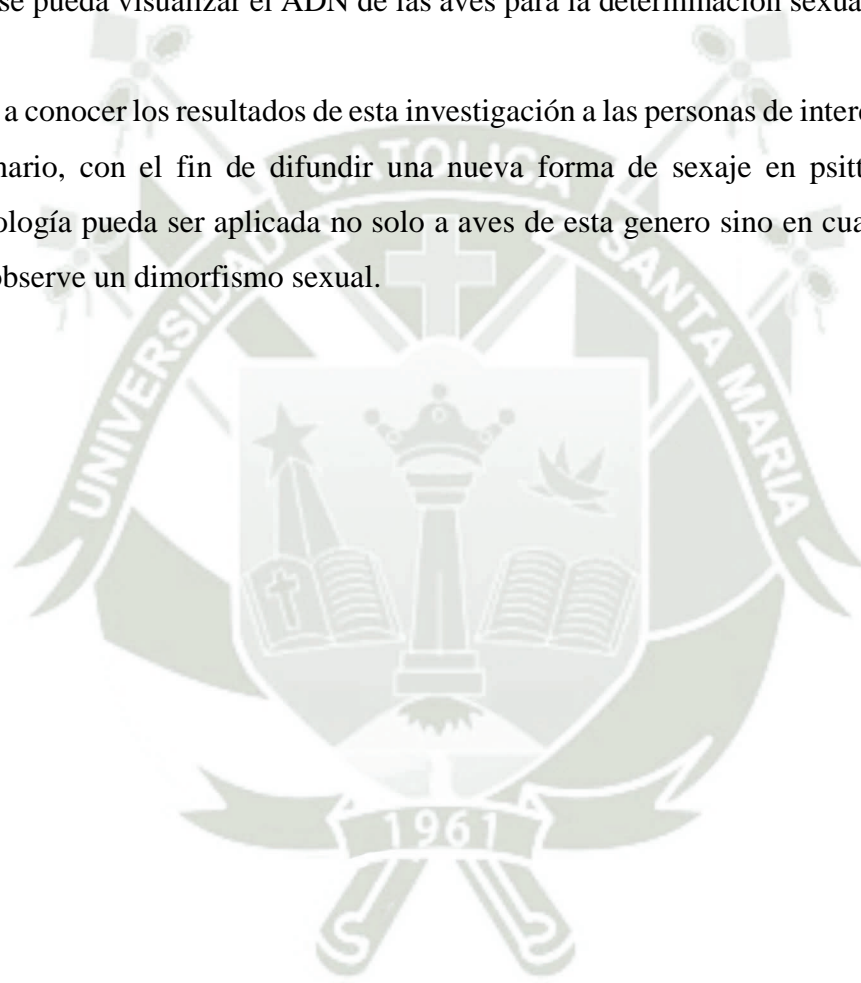
CAPÍTULO VI

6. RECOMENDACIONES

Utilizar la metodología descrita en el presente trabajo en cuanto a la obtención de las muestras, así como el procedimiento en las tinciones citológicas para la visualización del corpúsculo de Barr.

En base a lo encontrado se recomienda ampliar la investigación y buscar otras tinciones donde se pueda visualizar el ADN de las aves para la determinación sexual.

Dar a conocer los resultados de esta investigación a las personas de interés, como médicos Veterinario, con el fin de difundir una nueva forma de sexaje en psittcaras y que esta metodología pueda ser aplicada no solo a aves de esta genero sino en cualquier ave donde no se observe un dimorfismo sexual.





CAPÍTULO VII

REFERENCIAS

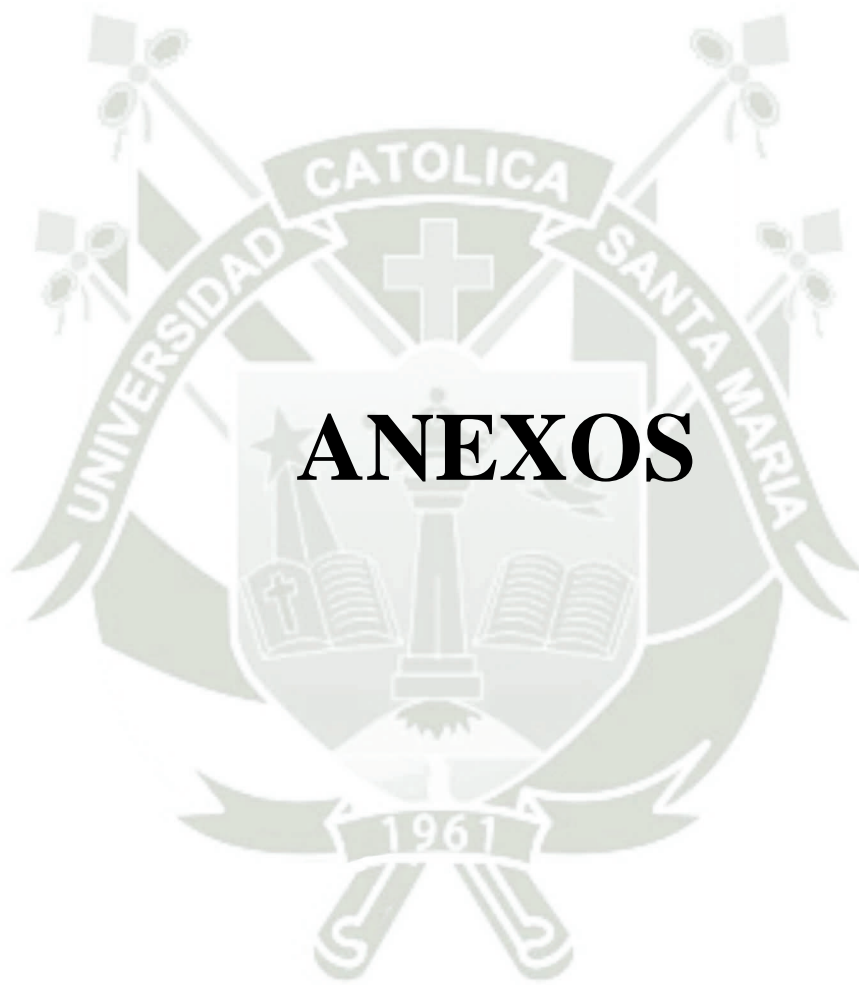
1. Betancur CL, Aguilar SB, Barrera CF, Mesa H. Sexaje citogenético y molecular de psitácidos. Bol Científico Cent Mus Mus Hist Nat. 2 de enero de 2017;21(1):112-21.
2. Matta Camacho NE, Ramírez Martín N, Zúñiga Díaz BC, Vera V. DETERMINACIÓN DE SEXO EN AVES MEDIANTE HERRAMIENTAS MOLECULARES. Acta Biológica Colomb. abril de 2009;14(1):27-40.
3. Ramos CN, Barros TB, Santos de Antonio E, Mirabal B, Borba da Silva. Sexing as a tool for reinsertion of Amazona aestiva parrots to nature: use of less invasive technique | Research, Society and Development [Internet]. 2021 [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/20601>
4. Valencia JA, Valencia V. “SEXADO MEDIANTE MORFOMETRÍA CORPORAL, VALIDADO POR EL ANÁLISIS DE ADN EN Agapornis spp., AREQUIPA 2018” [Internet]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María; 2018. Disponible en: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/8413/68.0856.VZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Duarte-Sánchez LF, Duarte-Sánchez, L. F., & Díaz-Martínez, J. A. (2009). CONDUCTA DE FORRAJEO Y SOCIAL EN DOS ESPECIES DE LOROS RECUPERADOS DEL TRÁFICO ILEGAL BEHAVIOR FORAGING AND SOCIAL BEHAVIOR IN TWO SPECIES OF PARROTS RECOVERED ILLEGAL TRAFFIC. Mesoamericana, 12. Comportamiento de los loros [Internet]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Jaime_Bonilla-Barbosa/publication/282355746_Factores_que_afectan_los_ecosistemas_acuaticos_y_su_influencia_en_la_distribucion_y_propagacion_de_plantas_acuaticas_mexicanas/links/560de2a908ae96742010f8af.pdf#page=13
6. Sepúlveda Correa A. Importancia de los psitácidos: el panorama de la conservación de los loros en Colombia. septiembre de 2019 [citado 10 de mayo de 2023]; Disponible en: <https://repository.upb.edu.co/handle/20.500.11912/8213>

7. VALENCIA PF. CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DE PSITACIDOS [Internet]. 2008 [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://docplayer.es/29130134-Caracterizacion-de-poblaciones-de-psitacidos.html>
8. Enciclopedia. Psittacara. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2021 [citado 7 de junio de 2023]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Psittacara&oldid=136706871>
9. Enciclopedia. Psittacara wagleri. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2022 [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Psittacara_wagleri&oldid=141338268
10. Enciclopedia. Psittacara erythrogenys. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2023 [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Psittacara_erythrogenys&oldid=150721463
11. Cerón IGS. INCIDENCIA EN LAS INTERVENCIONES DE POSESIÓN Y TRÁFICO DE LOS ESPECÍMENES PSITTACARA MITRATUS, PSITTACARA WAGLERI Y PSITTACARA ERYTHROGENYS PERIODO 2015 – 2021 EN APURÍMAC. SAPIENTIA IUSTITIA. (6):133-53.
12. Gil DF. ANATOMÍA ESPECÍFICA DE AVES: ASPECTOS FUNCIONALES Y CLÍNICOS. Disponible en: <https://www.um.es/anatvet-interactivo/interactividad/aaves/anatomia-aves-10.pdf>
13. Nuevo Á. La anatomía de los loros. Italia: Gruppo Editoriale Castel Negrino; 2009.
14. Psittacology M from. Loro de cabeza roja | Psittacara erythrogenys cuidados & más [Internet]. Psittacology. 2023 [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.psittacology.com/es/loro-de-cabeza-roja/>
15. Banco de la Republica. Perico Chocolero [Internet]. 2023 [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: <https://babel.banrepcultural.org/digital/collection/p17054coll21/id/481/>
16. Hablemos de Loros. 【 LORO CABEZA ROJA 】 Características, Alimentación, Reproducción y mas [Internet]. Hablemos de aves, aguilas, gallinas, pajaros, codorniz y

- mas. 2018 [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://hablemosdeaves.com/loro-cabeza-roja/>
17. Mascotas. Mascotas. [citado 7 de junio de 2023]. Aratinga de Wagler (*Psittacara wagleri*) - Aves exóticas. Disponible en: <https://www.mascotarios.org/aratinga-de-wagler/>
18. Aguado MC. Molecular sex identification in birds of prey. [citado 4 de julio de 2023]; Disponible en: <https://core.ac.uk/reader/61915656>
19. Rodriguez F. naturebrain.com. [citado 10 de mayo de 2023]. Como Sexar un loro gris. Disponible en: <http://www.lonchura.com/naturebrain/es/una-sola-categoria-animales/690-sexar-loro-gris>
20. Universidad Complutense Madrid. SEXADO DE AVES MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES DE ADN | Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación [Internet]. 2022 [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.ucm.es/otri/complutransfer-sexado-de-aves-mediante-marcadores-moleculares-de-adn>
21. Azme. Cómo saber si mi loro es macho o hembra - 5 pasos - Mascotas y Animales Doncomos.com [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://doncomos.com/mascotas/saber-loro-macho-hembra>
22. Liza Rodríguez JS. Determinación del sexo en guacamayos de las especies *Ara ararauna*, *Ara macao*, *Ara chloropthera*, *Ara militaris*, *Propyrrhura couloni* mediante el uso del ADN. Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2006 [citado 10 de mayo de 2023]; Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/685>
23. Lifeder. Lifeder. 2020 [citado 6 de junio de 2023]. Corpúsculo de Barr: características, estructura, diagnóstico. Disponible en: <https://www.lifeder.com/corpusculo-de-barr/>
24. Martínez Medina M, Flores Hernández JR. Resumen: Corpúsculo de Barr | Embriología Humana | Médico Cirujano (UNAM) | Filadd [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://filadd.com>

25. Argote Y. Corpúsculo de barr [Internet]. [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.slideshare.net/yulibeth07/corpsculo-de-barr>
26. Universidad Autónoma de Baja California. PRÁCTICA 9: Núcleo [Internet]. 2021 [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: <http://peces.ens.uabc.mx/bcym/practica/PRACTICA09.html>
27. De la Torre Navarro A. G. R5 Cromatina sexual X en células de la mucosa bucal de humano - REPORTE DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA - Studocu [Internet]. [citado 6 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-de-guanajuato/biologia-celular/r5-cromatina-sexual-x-en-celulas-de-la-mucosa-bucal-de-humano/2875451>
28. Suazo Galdames I, Flores A, Roa I, Cantín M, Zavando D. Determinación del Sexo Mediante la Observación de la Cromatina de Barr en Piezas Sometidas a Altas Temperaturas. *Int J Morphol.* marzo de 2011;29(1):199-203.
29. Martínez-Frías ML. Estructura y función del ADN y de los genes II. Tipos de alteraciones de la función del gen por procesos epigenéticos. *Med Fam SEMERGEN.* 1 de junio de 2010;36(6):332-5.
30. Torres E. Scribd. [citado 10 de mayo de 2023]. Corpúsculo de BARR | PDF | Cromosoma | Genética. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/410572372/Corpuculo-de-BARR>
31. Suazo Galdames I, Roa Henríquez I, Cantín L M. Cromatina Sexual en Pulpa Dental: Rendimiento de la Prueba Diagnóstica y Generación del Gold Standard. *Int J Morphol.* diciembre de 2010;28(4):1093-6.
32. Histo line Laboratories. Feulgen - kit | 01FE100T | Histoline [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.histoline.com/es/01fe100t>
33. Albornoz López del Castillo C, Barrios Sánchez O, Rojas Casanova P, Bastian Manso L, Santana Garay JC. Eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. *Rev Arch Méd Camagüey.* agosto de 2010;14(4):0-0.

34. Biotecmol. Sexado de Aves por ADN [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023].
Disponible en: <https://biotecmol.mx/servicios/sexado-de-aves-por-adn/>
35. GONZALES JMB. TINCION DE FEULGEN.pdf [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.slideshare.net/MontsColmena/tincion-de-feulgenpdf>
36. SERFOR. IDENTIFICACIÓN Y CUIDADOS INICIALES DE ANIMALES SILVESTRES DECOMISADOS O HALLADOS EN ABANDONO. 2da Edicion. Lima; 2016.
37. Meredith A, Redrobe S. Manual de Animales Exóticos. LEXUS; 2013.
38. Atlas de Histología Vegetal y Animal. Técnicas Histológicas. Protocolos y recetas. Azul de toluidina (animales). Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. 2022 [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/protocolos/p-tincion-toluidina-a.php>
39. Lissa. Determinación del sexo en guacamayos de las especies Ara ararauna, Ara macao, Ara chloropthera, Ara militaris, Propyrrhura couloni mediante el uso del ADN. [Lima – Perú.]: Universidad Nacional Mayor De San Marcos;



ANEXOS

Anexo 1: CARTA DE AUTORIZACIÓN - SERFOR

Solicito: Autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre, (con o sin contrato de acceso a recursos genéticos).

Señor:
LUIS FELIPE GONZALES DUEÑAS
Administrador Técnico
Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre - Arequipa
SERFOR
Presente.-



Yo, **Dayana del Rosario Fernández Velásquez** identificado con DNI N° 70488165, de nacionalidad peruana con domicilio legal en Calle Alfonso Ugarte 104 - B Distrito Paucarpata, Provincia Arequipa, Departamento de Arequipa, Teléfono 981053385, Correo electrónico 70488165@ucsm.edu.pe, Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Católica de Santa María, ante usted respetuosamente expongo:

Que, de conformidad con el Decreto Supremo N° 019-2015-MINAGRI que aprueba el Reglamento para la Gestión de Fauna Silvestre, solicito se me otorgue una Autorización para realizar investigación científica, con **TOMA DE MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL** de 12 Psittacara (wagleri y erythrogenys) a realizarse en el **PARQUE ALBERGUE ZOOMUNDO** del distrito de Paucarpata de Arequipa, las muestra se tomaran en aproximadamnte 2 minutos por Psittacara, con ayuda del encargado del zoológico, como parte del Proyecto de tesis, aprobado por las dictaminadores propuestos por la Universidad Católica de Santa María, titulado: **“Comparación de las tinciones de Feulgen y Azul de Toluidina para la visualización del ADN para la identificación del sexo en Psittacaras de Zoomundo, Arequipa 2023”**, muestreo que se realizara en los meses de setiembre a octubre del 2023, para lo cual cumpro con adjuntar toda la documentación exigida para este efecto.

Por lo expuesto, agradeceré a usted acceder a lo solicitado.

Arequipa, 11 de septiembre de 2023


Firma

De conformidad con el Art. 20 de la Ley 27444 numeral 20.1.2, el administrado podrá autorizar de manera expresa que adicional a la notificación personal se le notifique mediante telefax, correo electrónico y cualquier otro medio que permita comprobar fehacientemente su acuse de recibo y quien lo recibe.

Correo electrónico y teléfono de contacto nacional: 70488165@ucsm.edu.pe / 981053385

Se adjunta (Colocar check)

- Hoja de vida del investigador responsable, Relación de investigadores y Plan de investigación.
- Carta de presentación de cada participante.
- Consentimiento informado previo, *de corresponder.*
- Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan los investigadores nacionales y extranjeros, en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero.

Reg. 42134-2023

Anexo 2. CARTA DE AUTORIZACIÓN – ZOO MUNDO



PARQUE ALBERGUE “ZOO MUNDO AREQUIPA”

*“Velar por su bienestar es un compromiso
que queremos compartir contigo”*

“AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO”

Oficio No 035-23 ZMA

Arequipa, 06 de SETIEMBRE del 2023

Srta.:

Dayanna Fernandez Velasquez

PRESENTE.-

De mi mayor consideración:

Remito a la respuesta a su solicitud presentada el día 29 de agosto, solicitando autorización depara realizar trabajo de investigación en las instalaciones del Parque Zoologico, la misma que fue evaluada por el responsable del Area de fauna el MVZ Esp. José Granados García, el mismo que da visto bueno al permiso para ejecución del trabajo titulado “Comparacion de las tinciones de Feulgen y Azul de Toluidina para la visualización del ADN para la identificacion del sexo en Psittacaras de Zoo Mundo, Arequipa 2023”, para con fin de optar el grado de Medico veterinario y Zootecnista.

Se remite la presente a solicitud de su persona para fines que vea por conveniente, sin antes mencionarle realizar el tramite de autorización ante el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre de la localidad.

Atte.


Lic. Socorro García Márquez
GERENTE GENERAL
ZOOMUNDO AREQUIPA S.R.L.

Balneario de Jesús s/n Paucarpata - Arequipa - Perú Central Zoo: (054) 466253 - Cel.: 986997701
E-mail: asistente@zoomundoaqp.com.pe / visitas@zoomundoaqp.com.pe www.zoomundoaqp.com.pe

Anexo 3. EVIDENCIA DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS













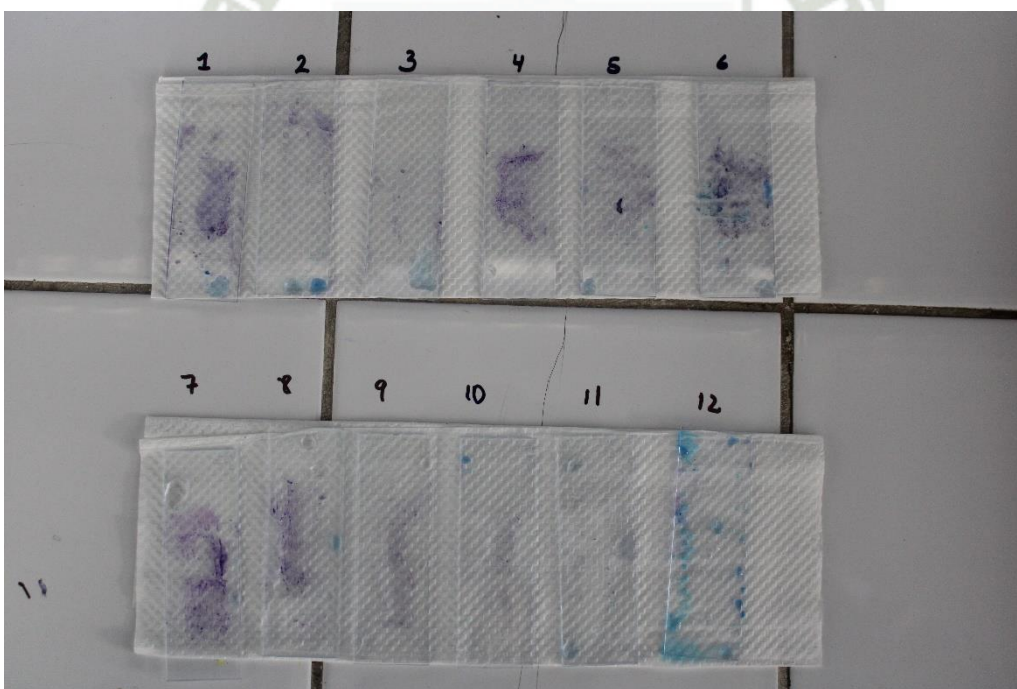
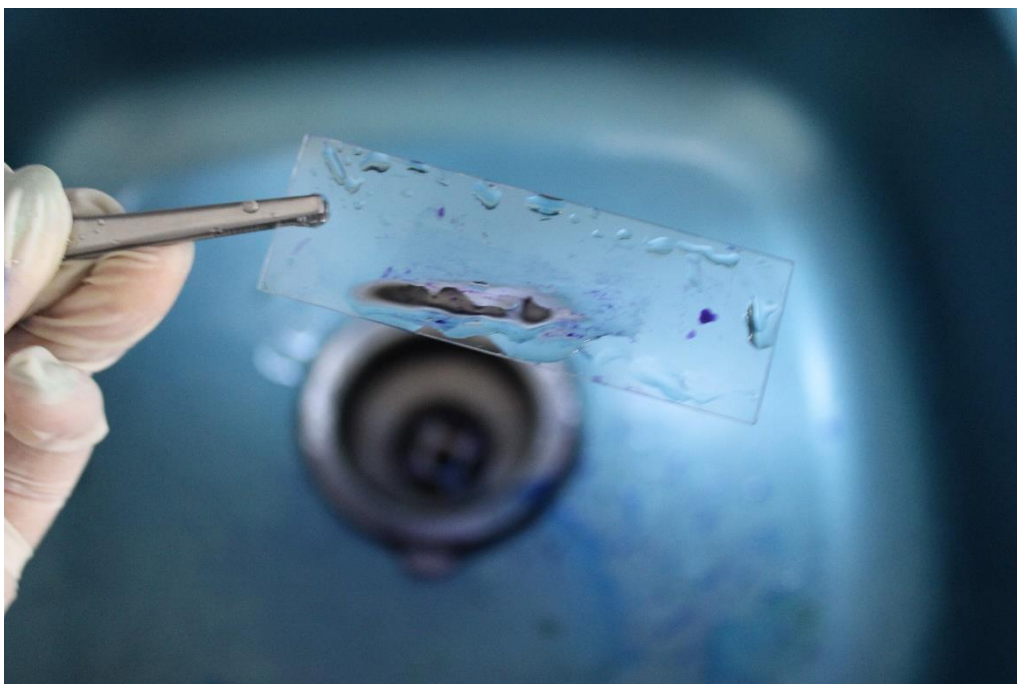




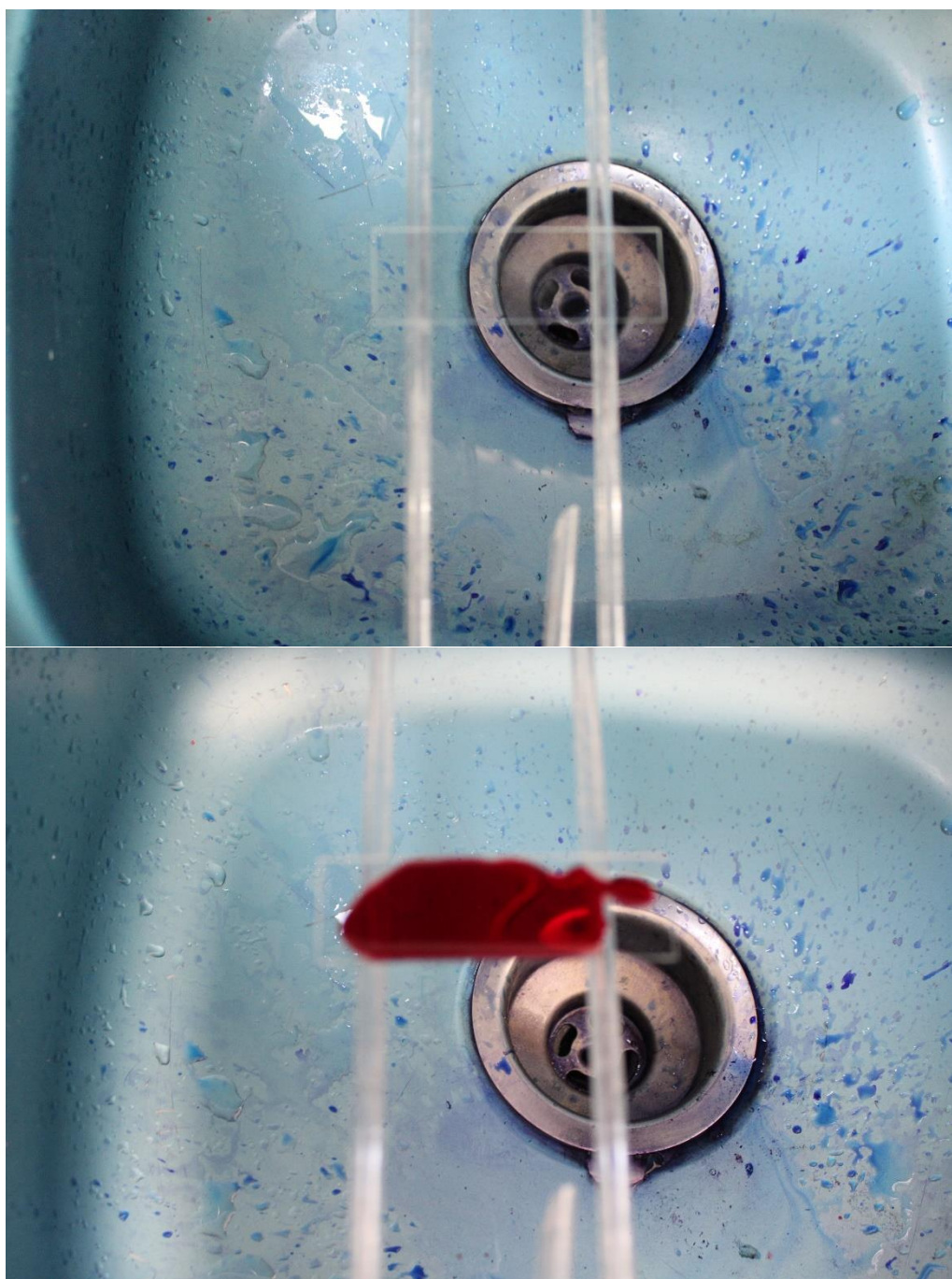
**Anexo 4. EVIDENCIA DE PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN DE AZUL DE
TOLUIDINA**

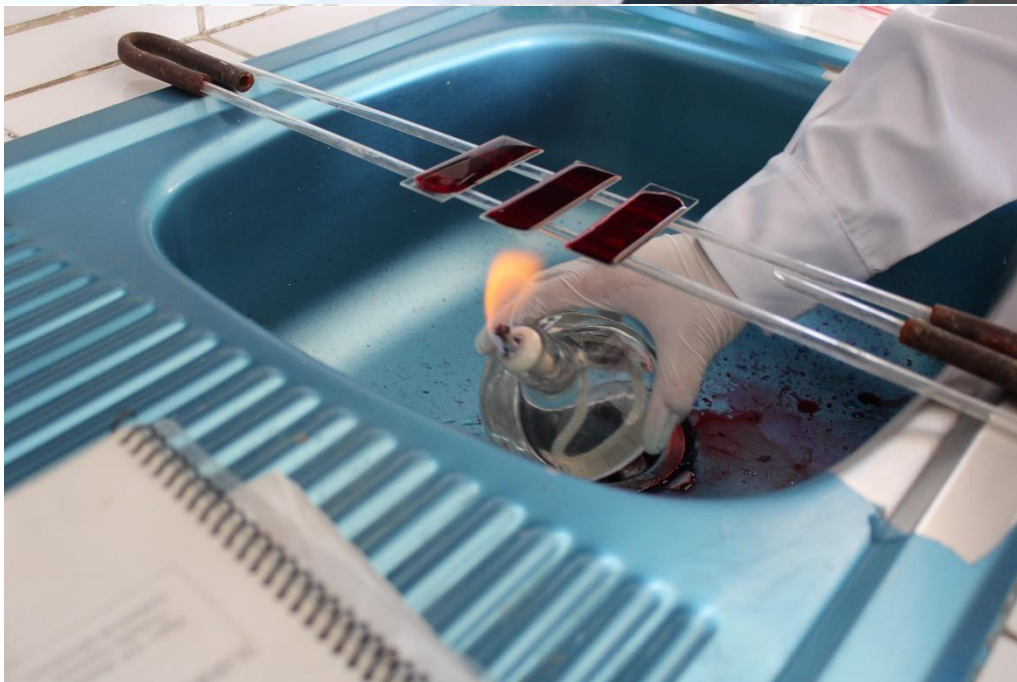
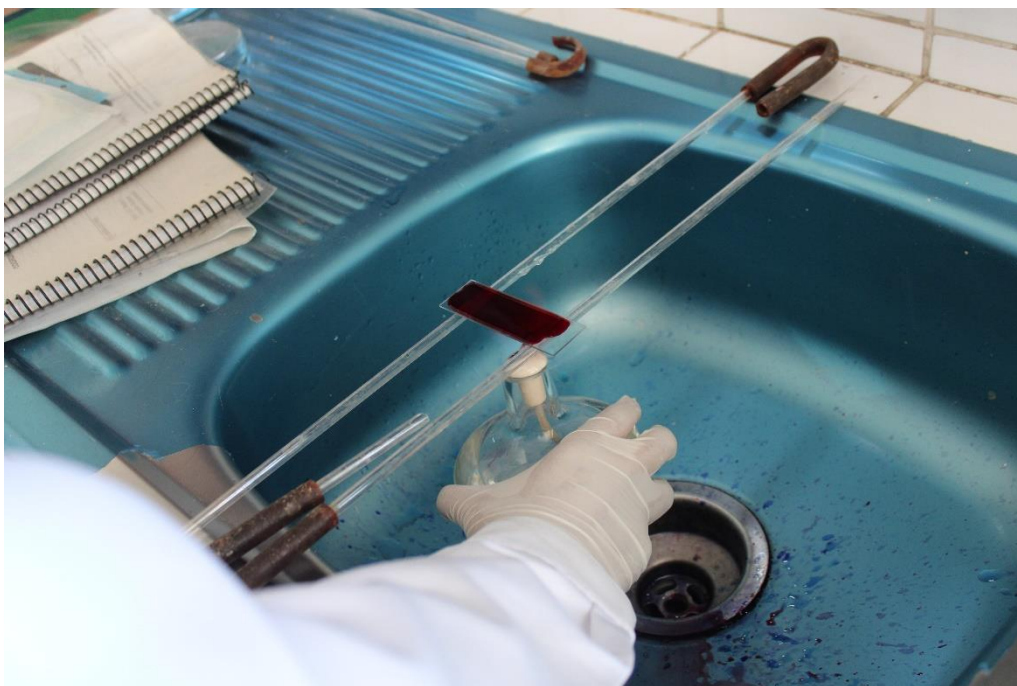


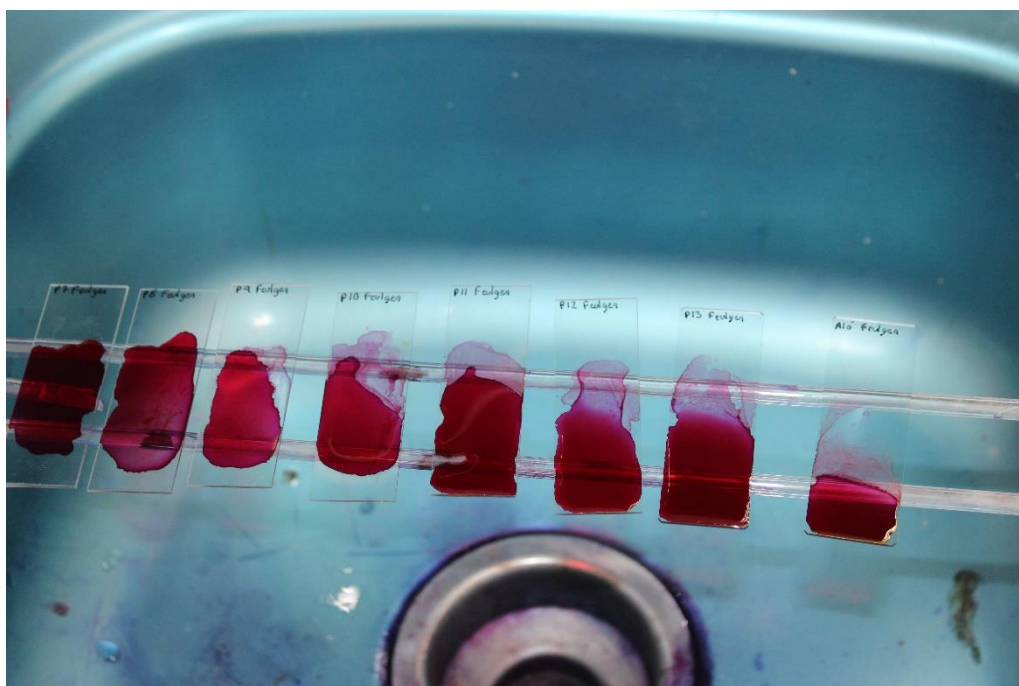


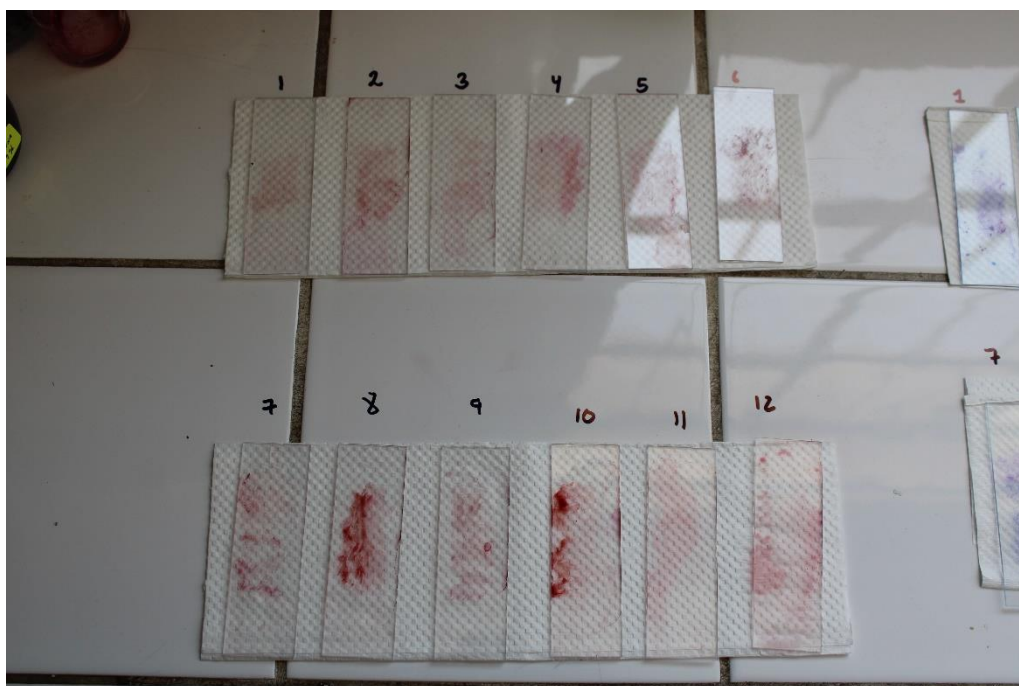


Anexo 5. EVIDENCIA DE PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN DE FEULGEN







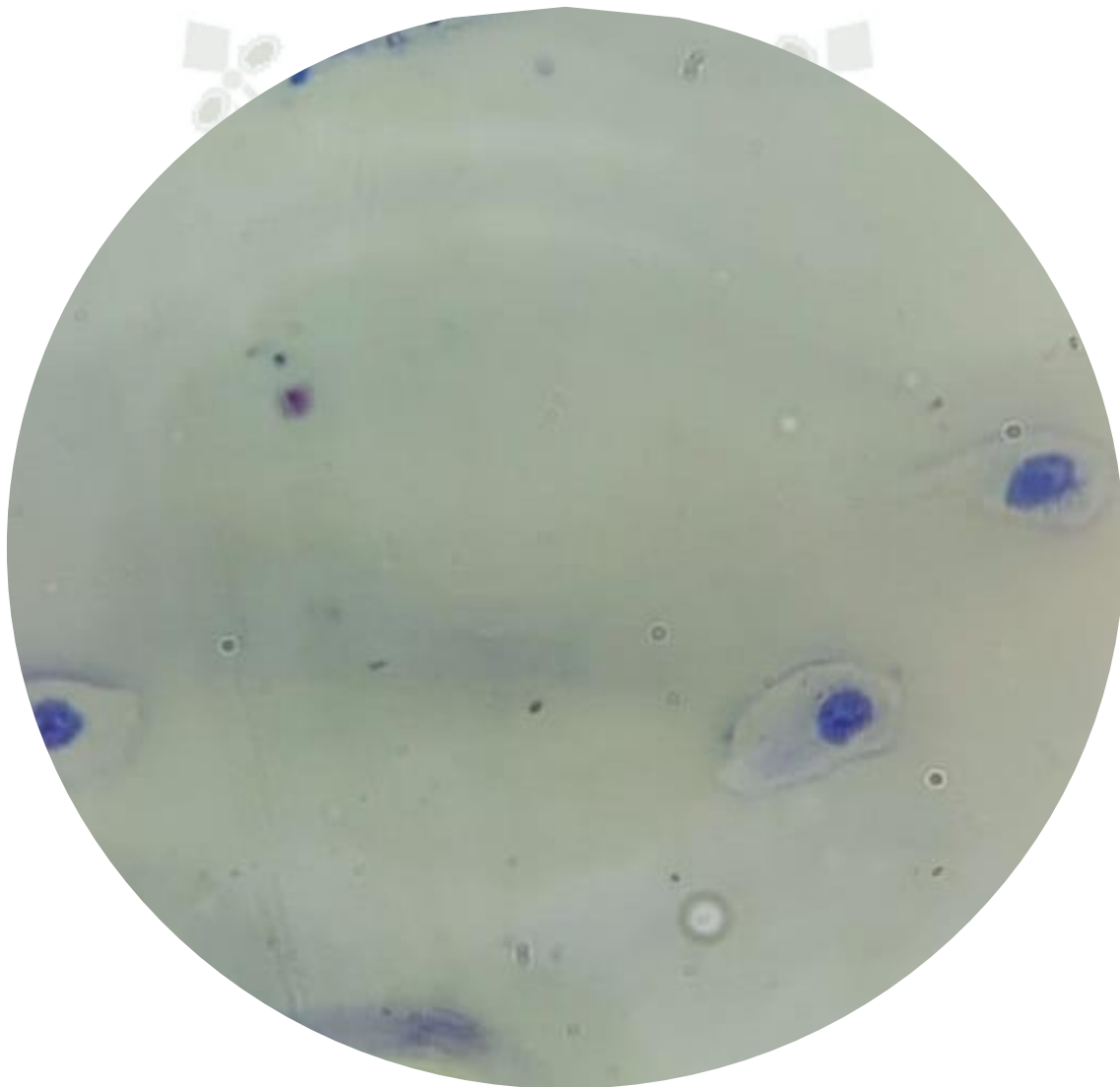


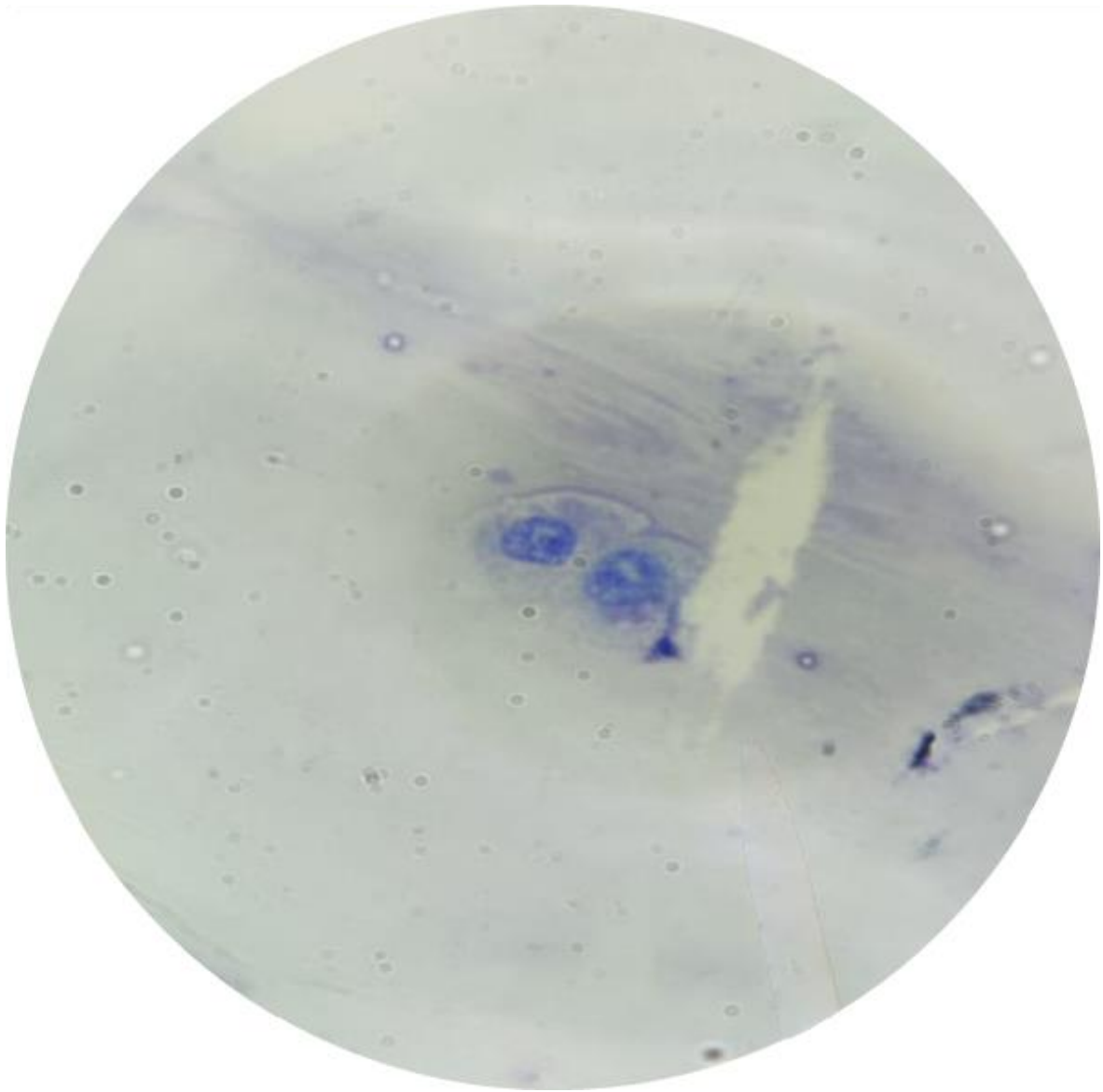
Anexo 6. Resultado Azul de Toluidina

P1

Psittacara erythrogenys

MACHO

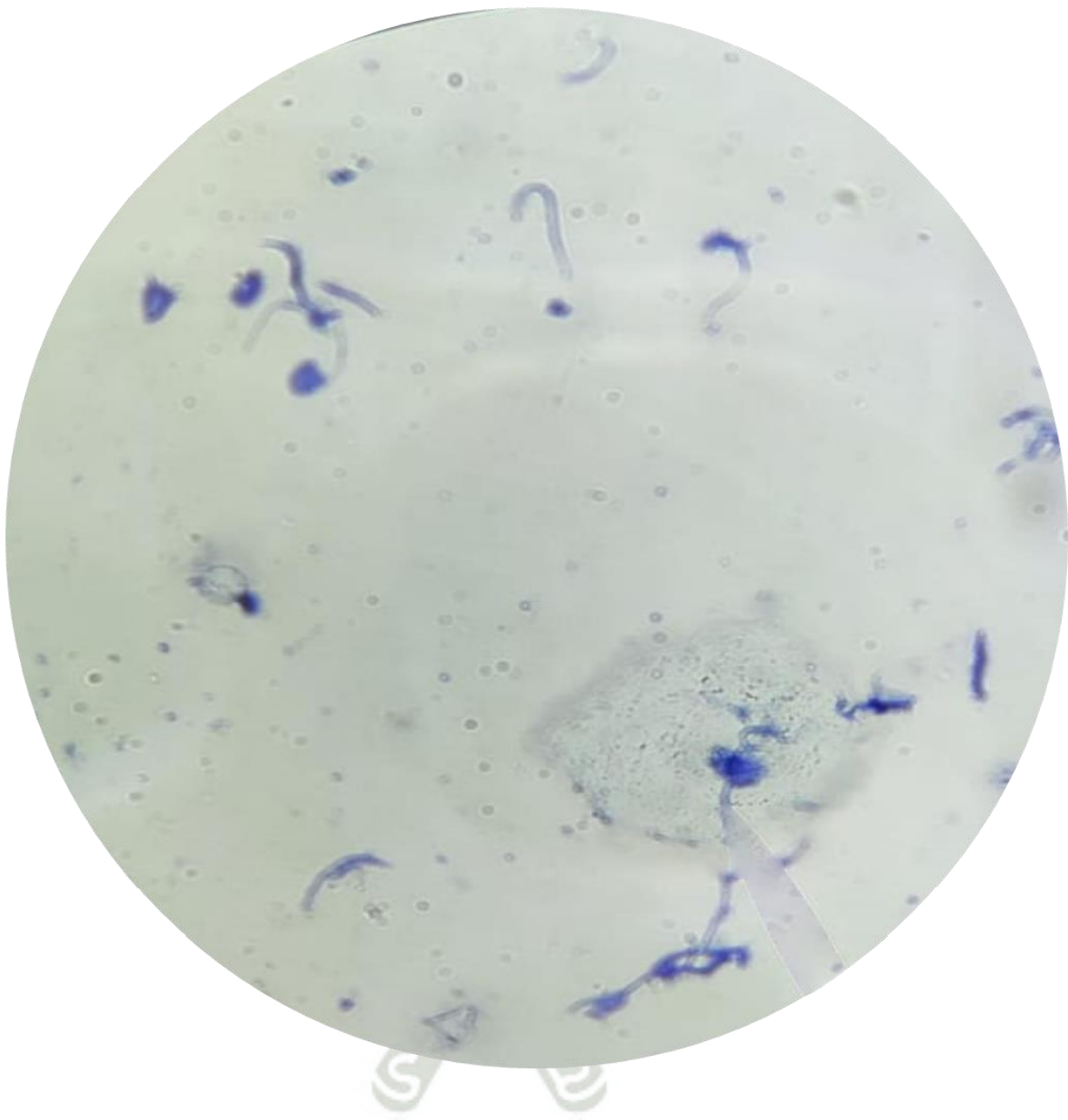


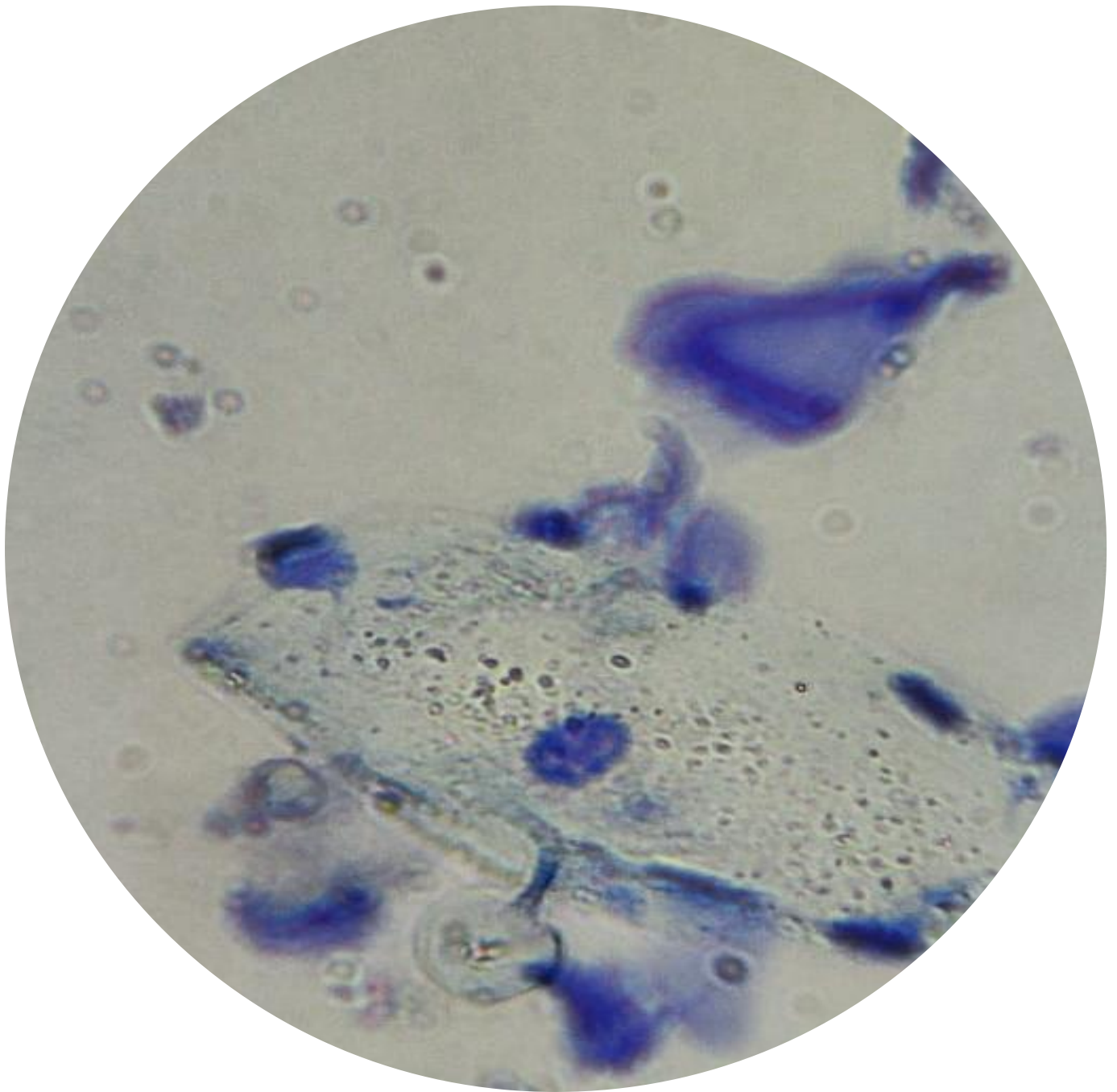


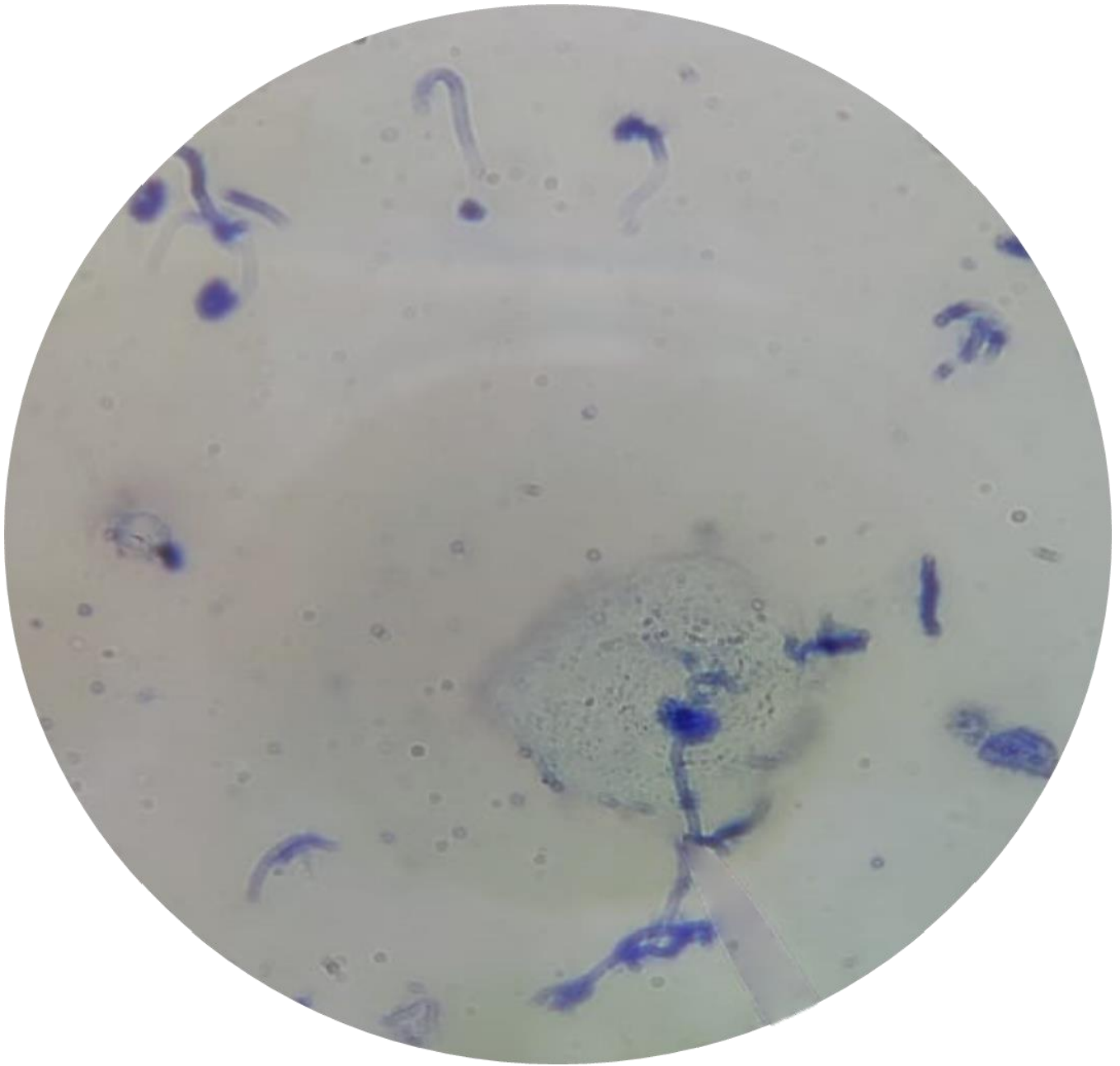
P2

Psittacara wagleri

HEMBRA



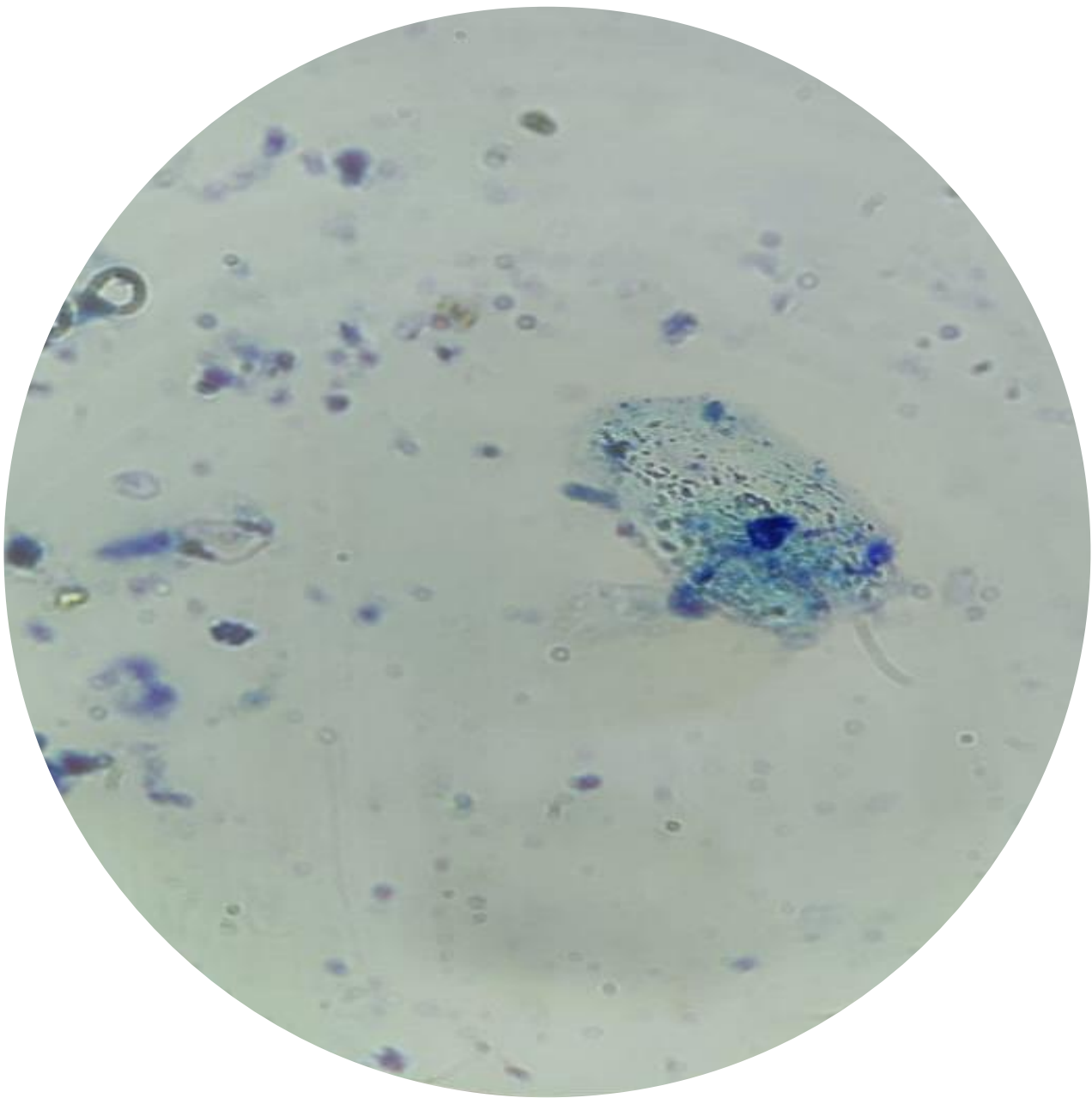




P3

Psittacara wagleri

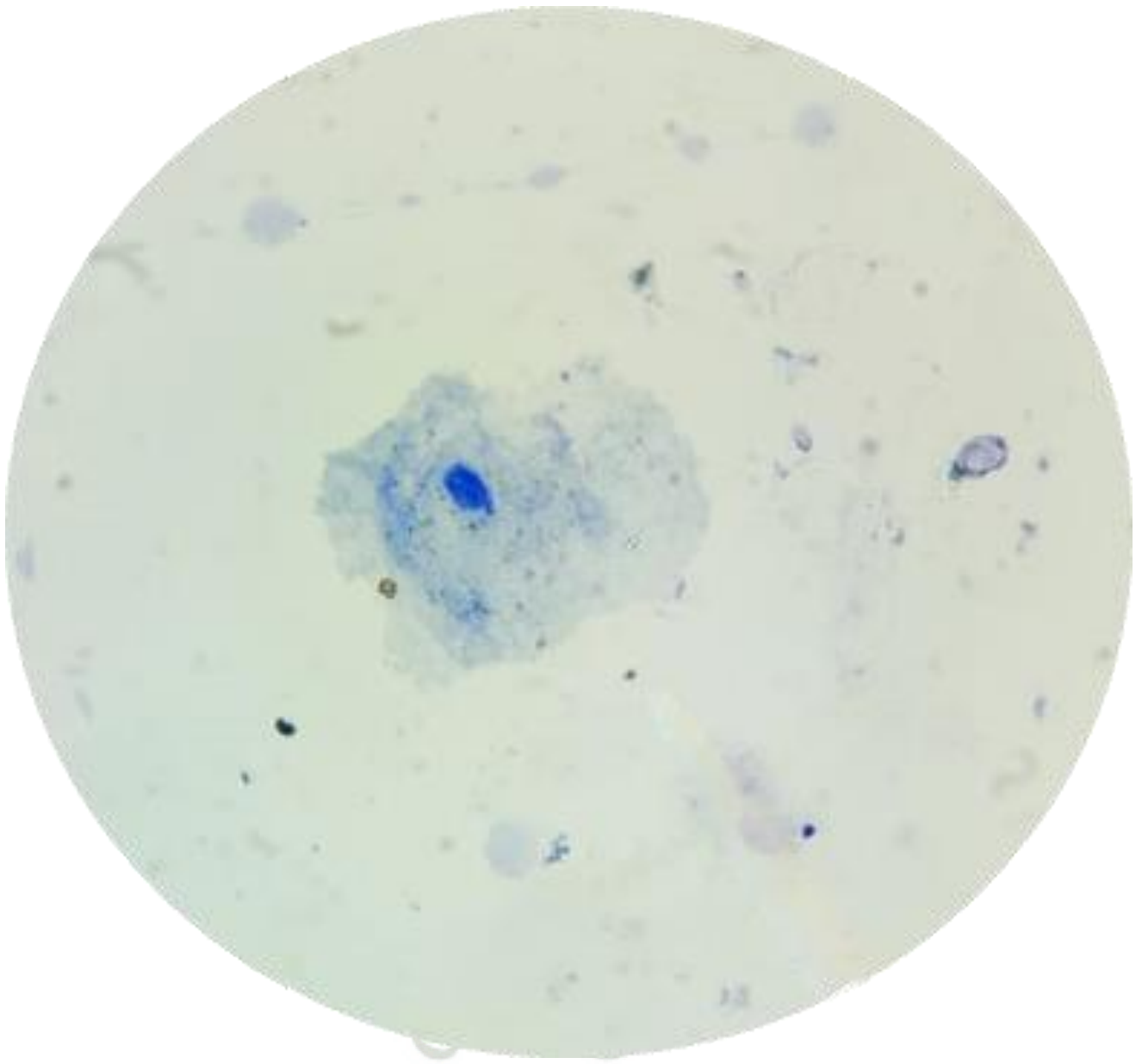
MACHO



P4

Psittacara erythrogenys

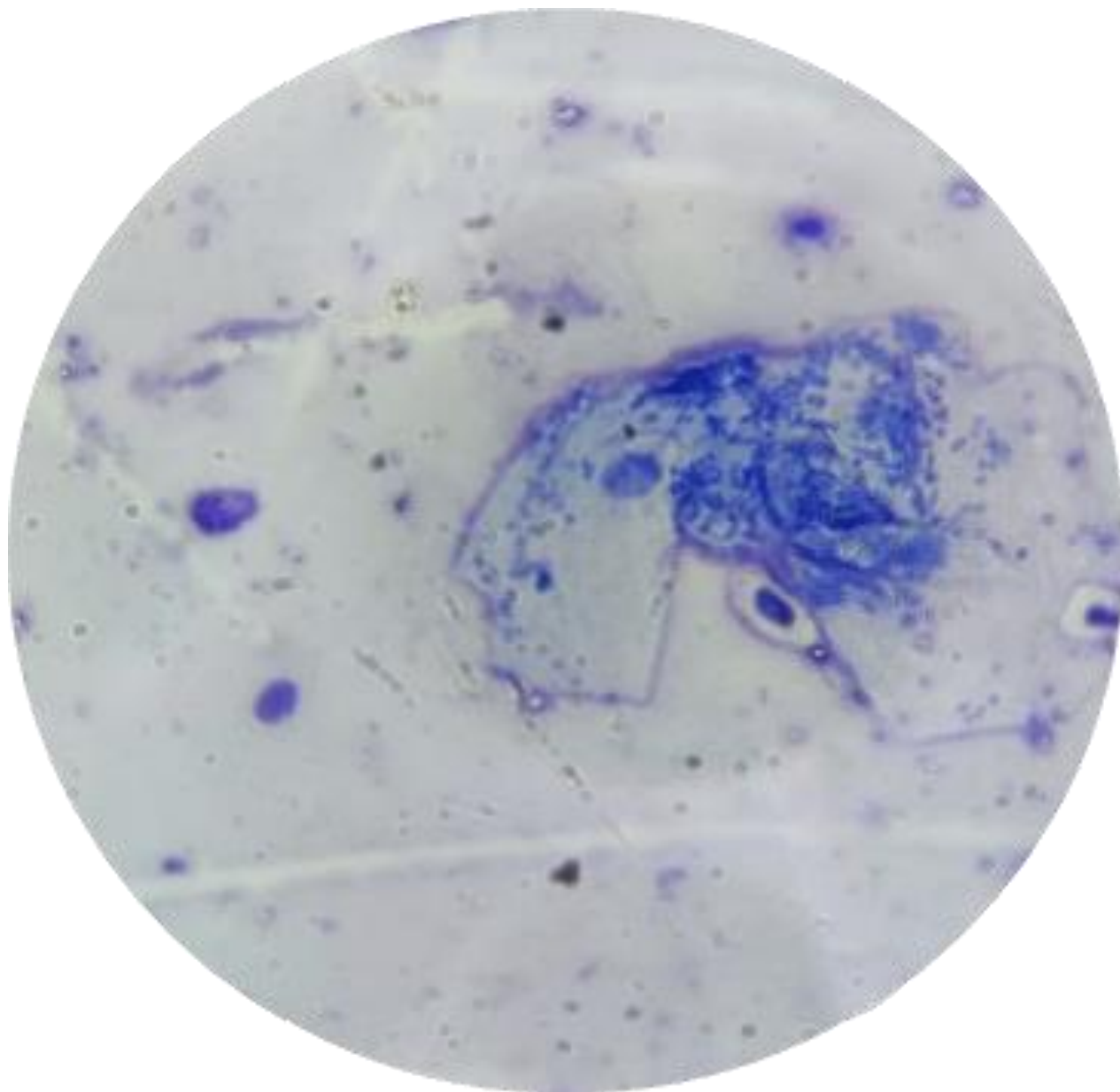
MACHO

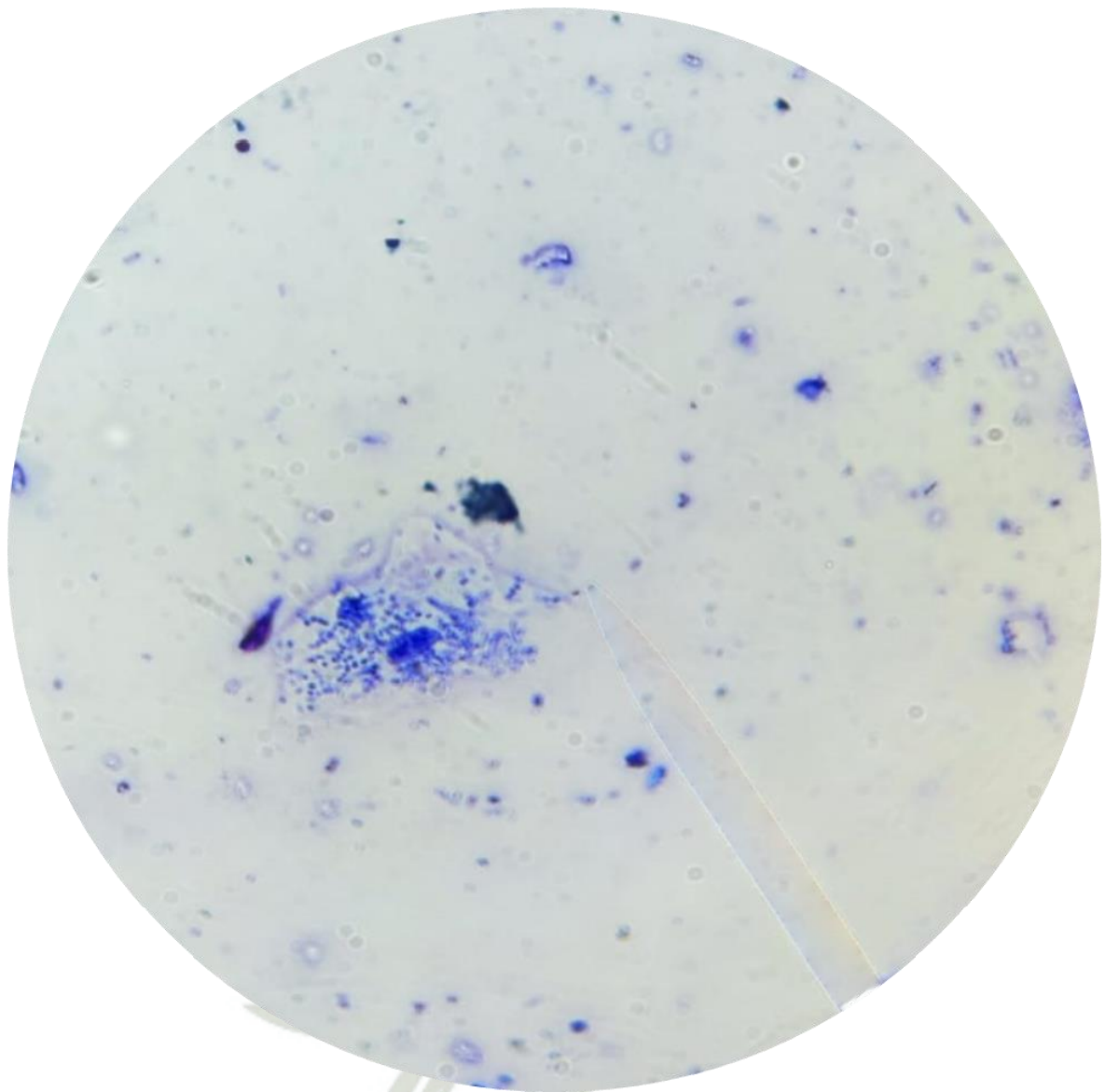


P5

Psittacara wagleri

MACHO

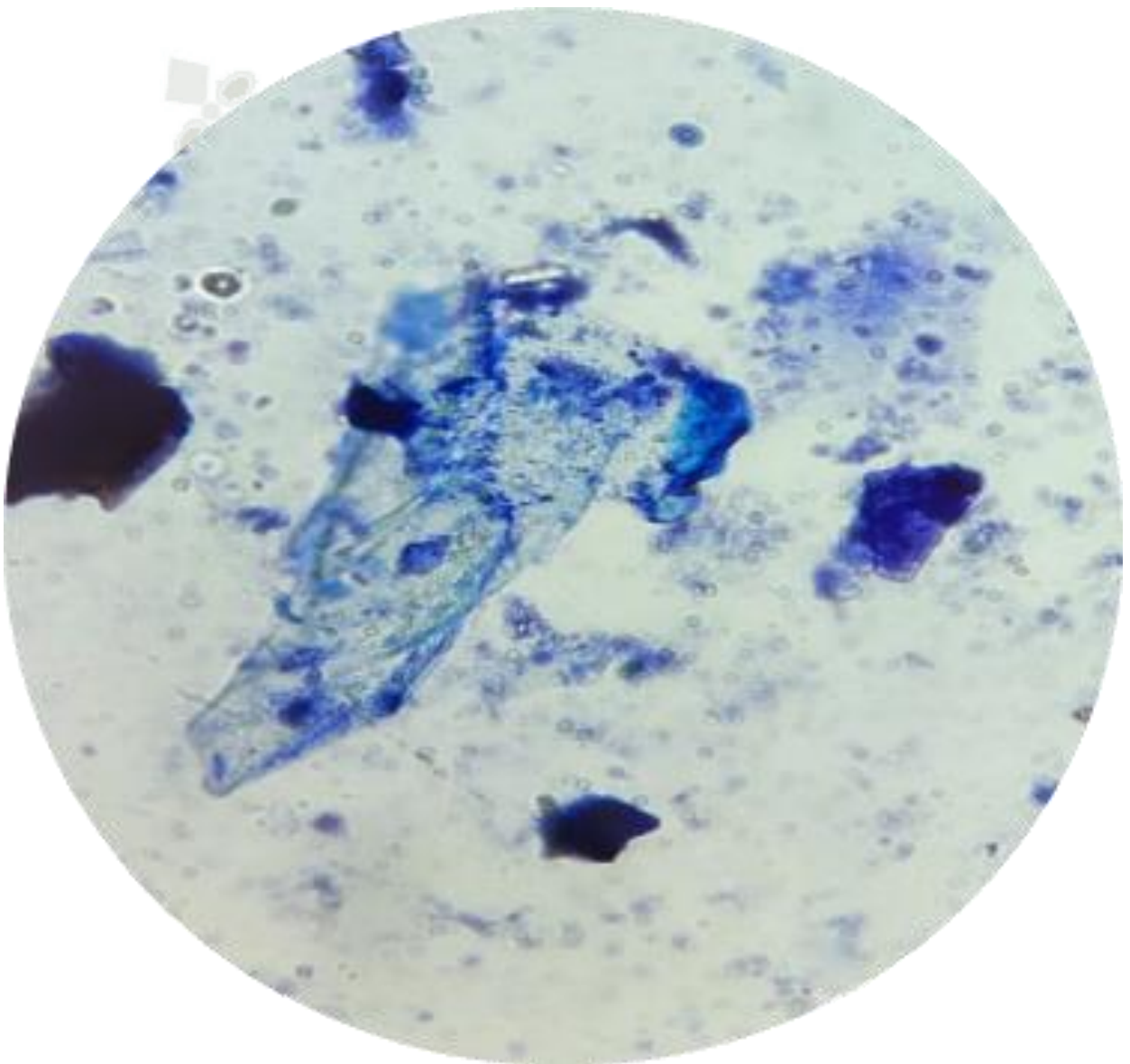


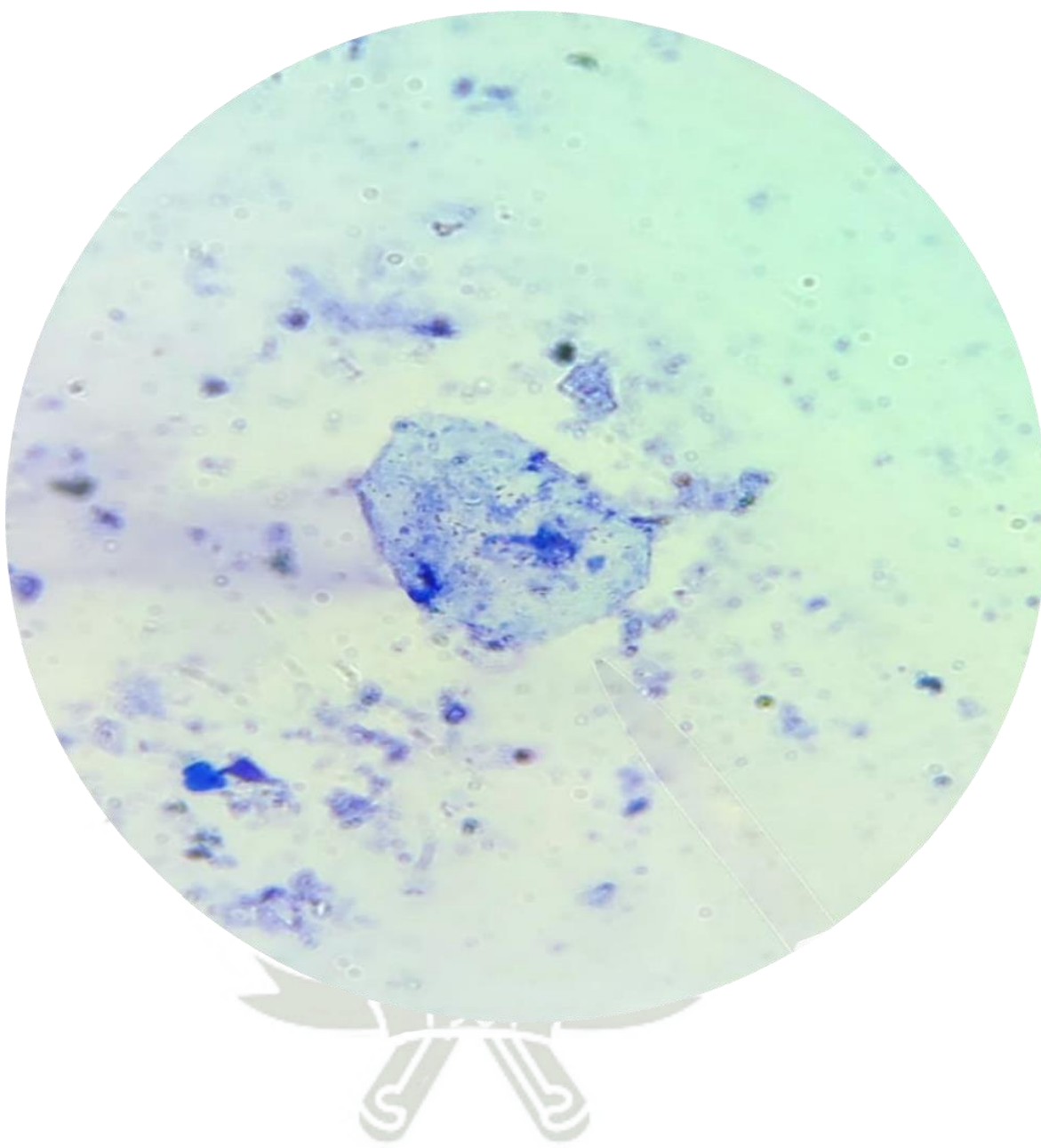


P6

Psittacara wagleri

MACHO

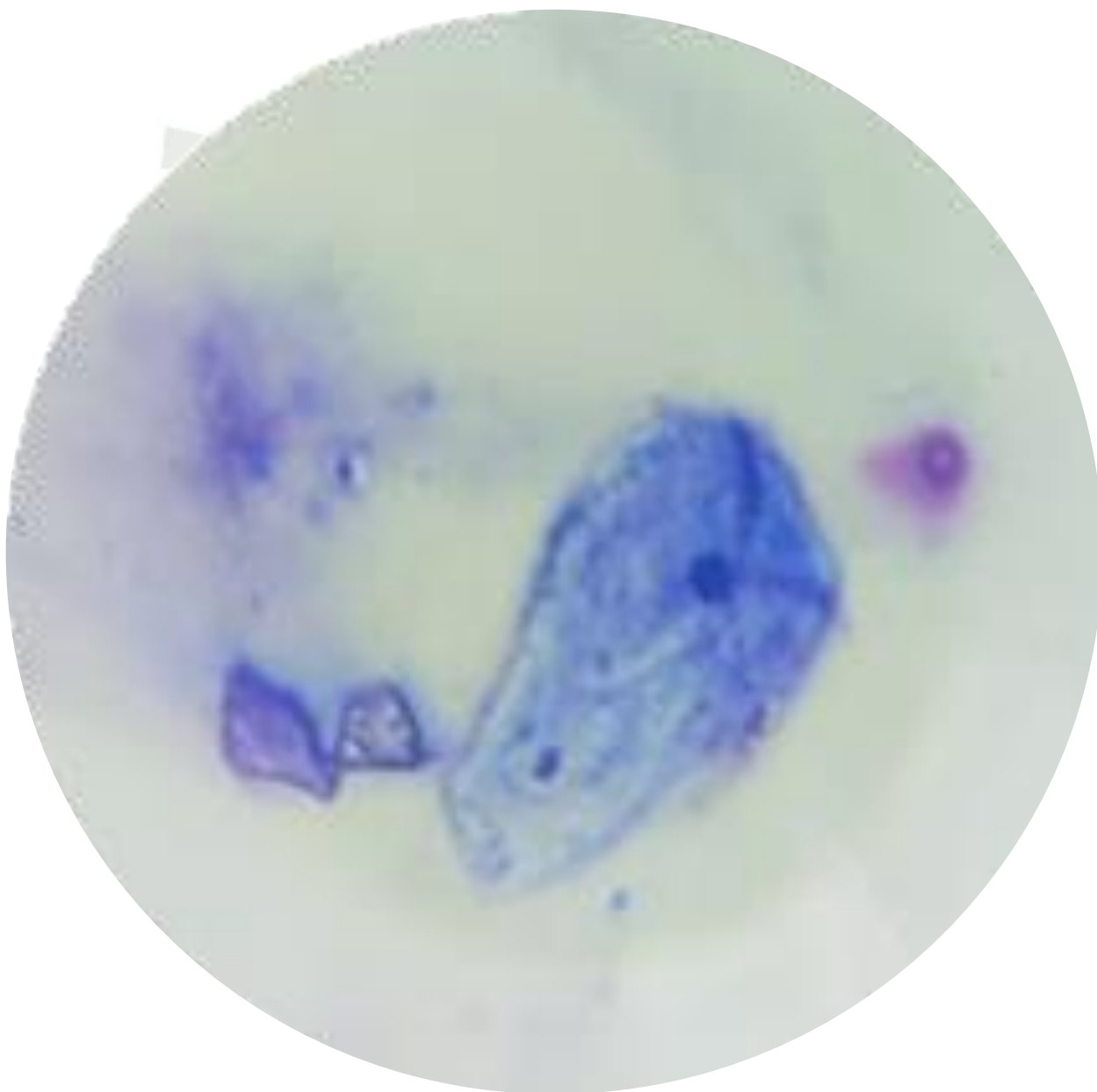


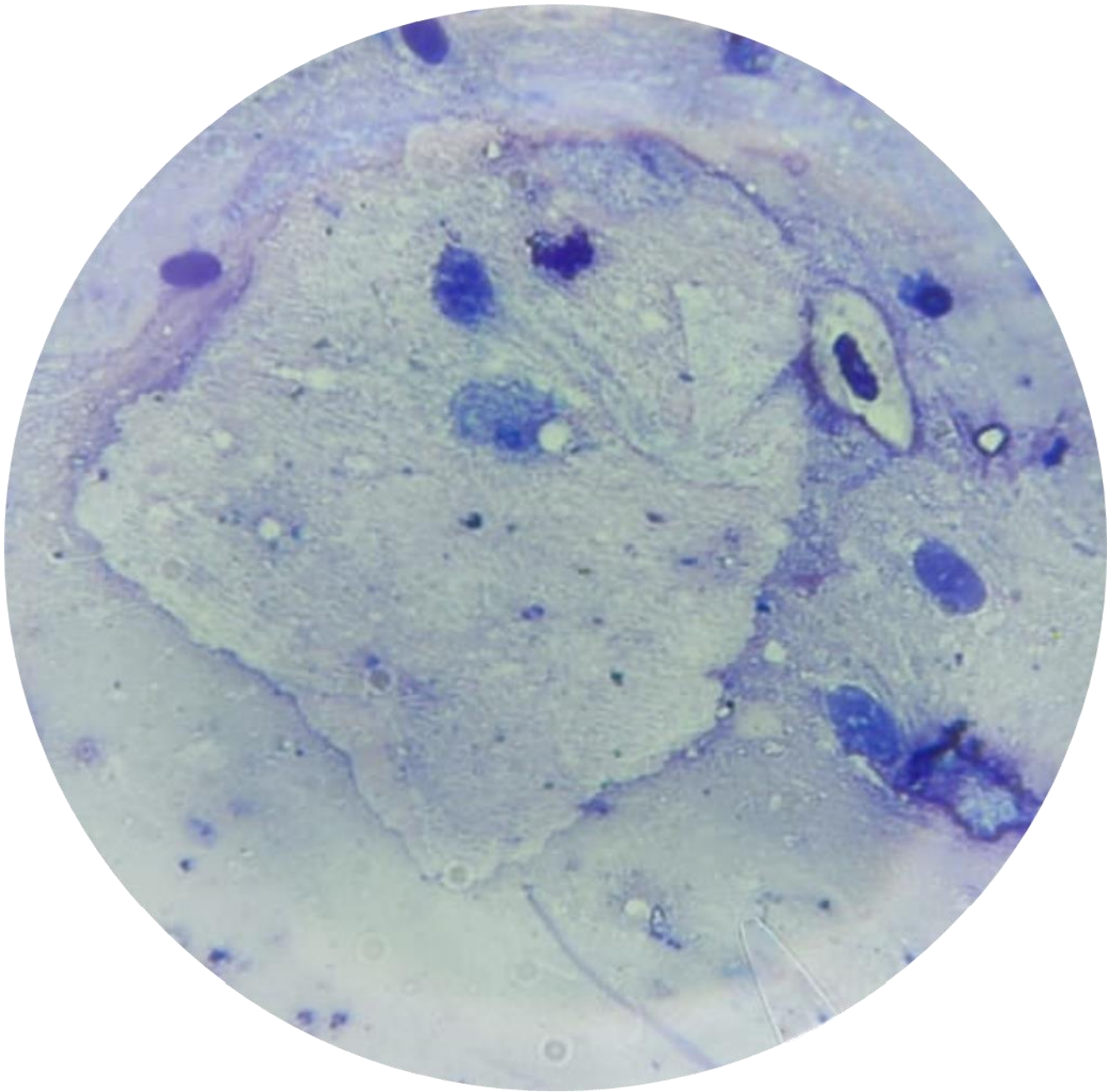


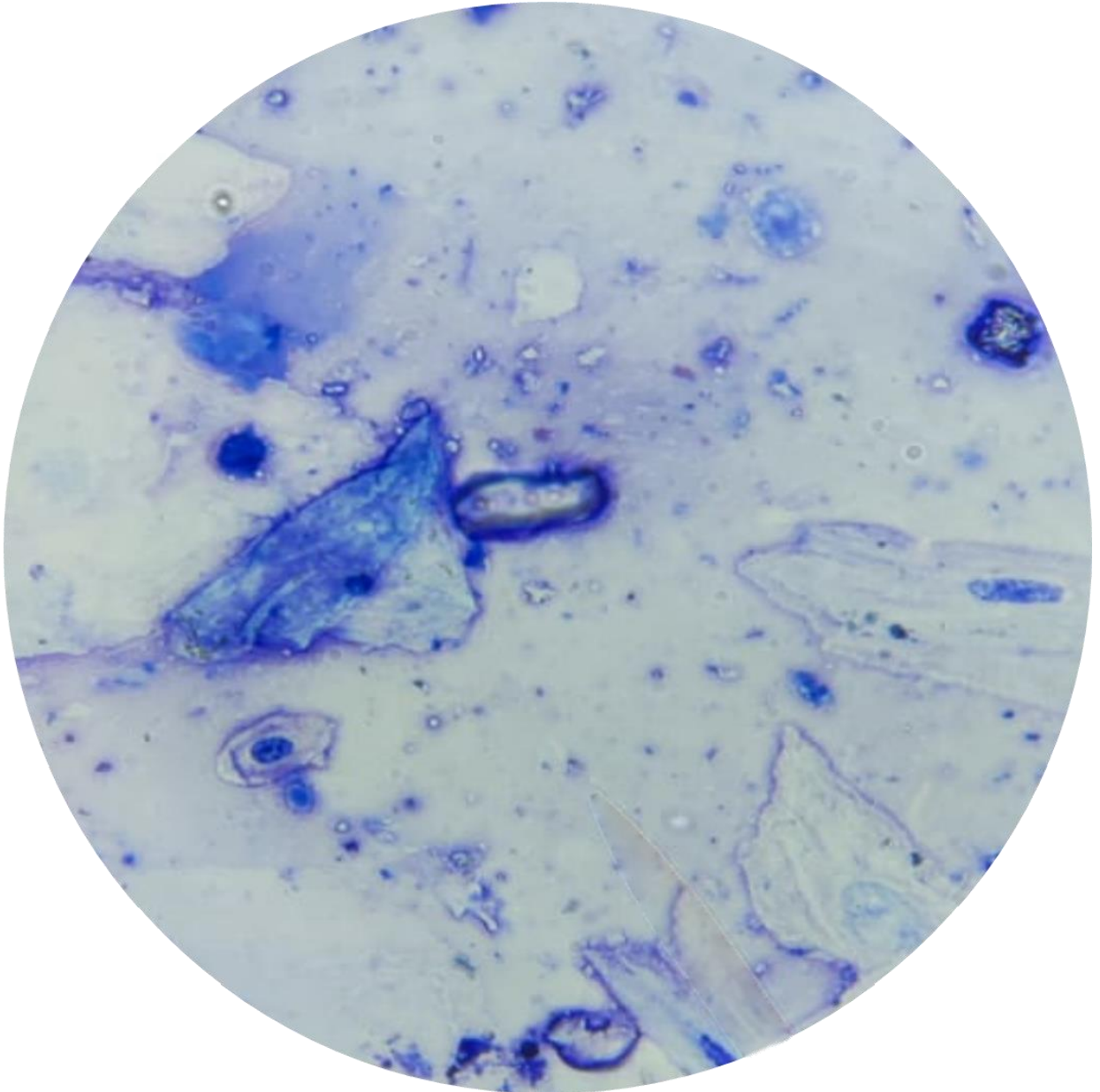
P7

Psittacara erythrogenys

HEMBRA



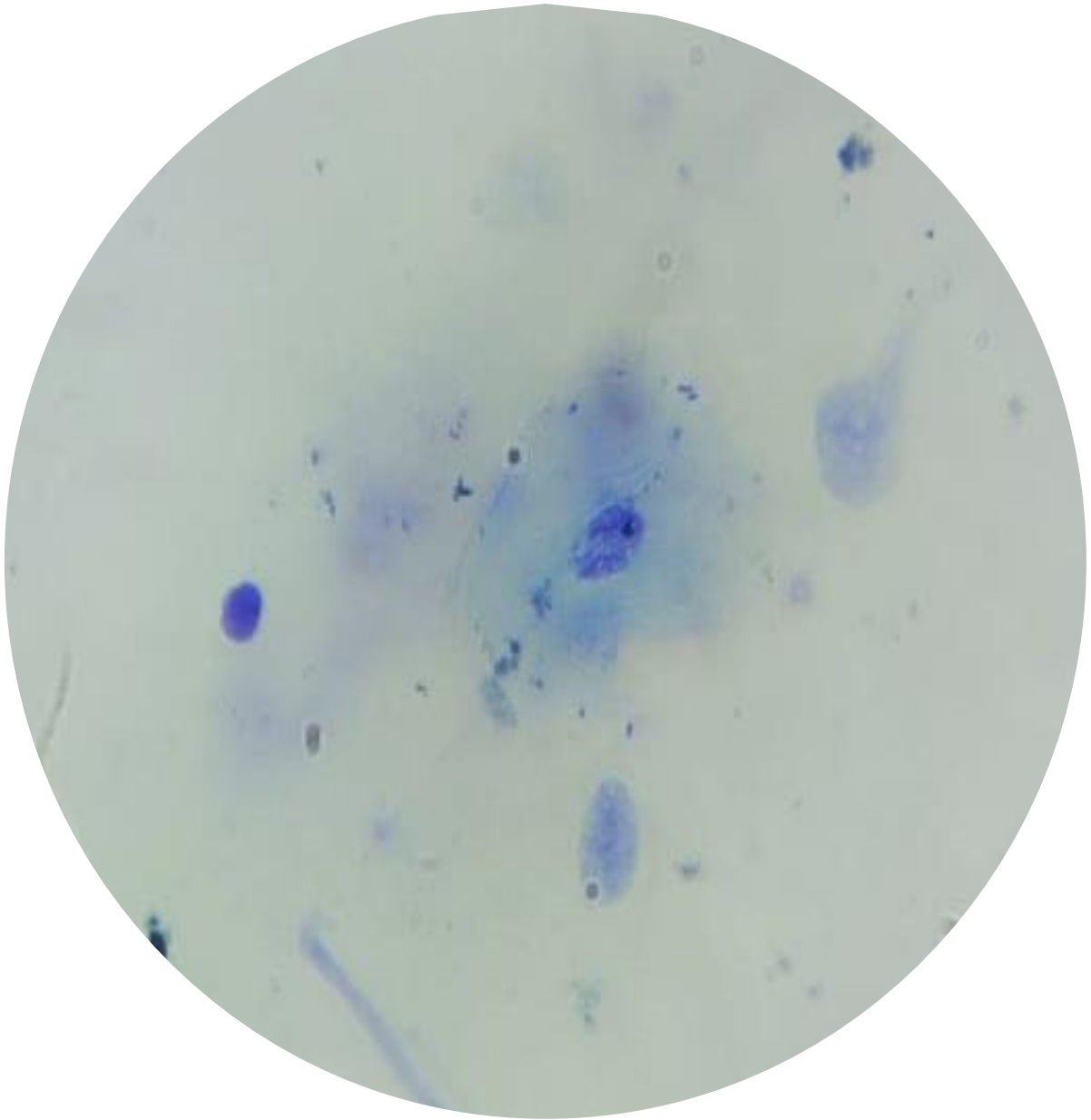


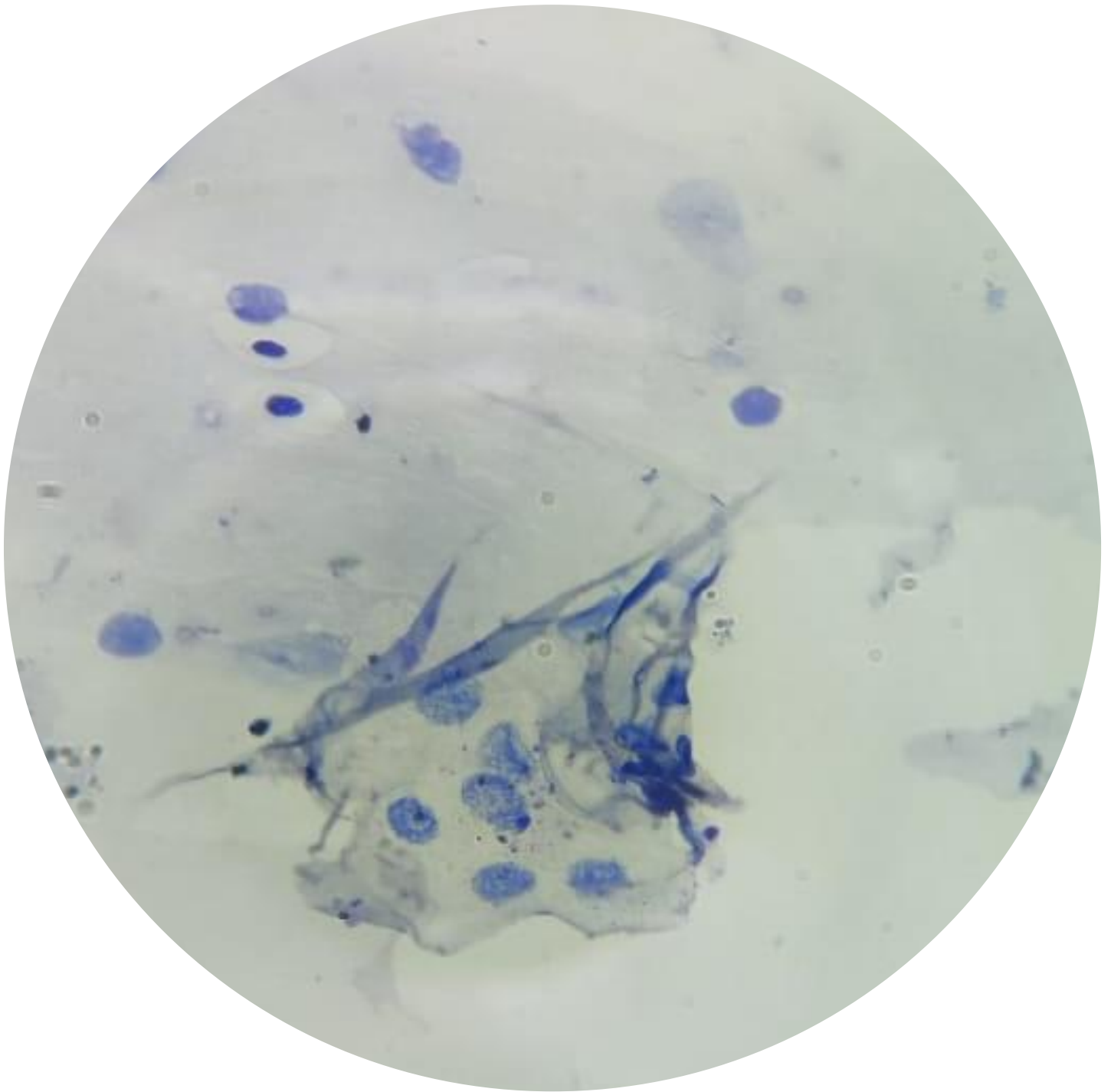


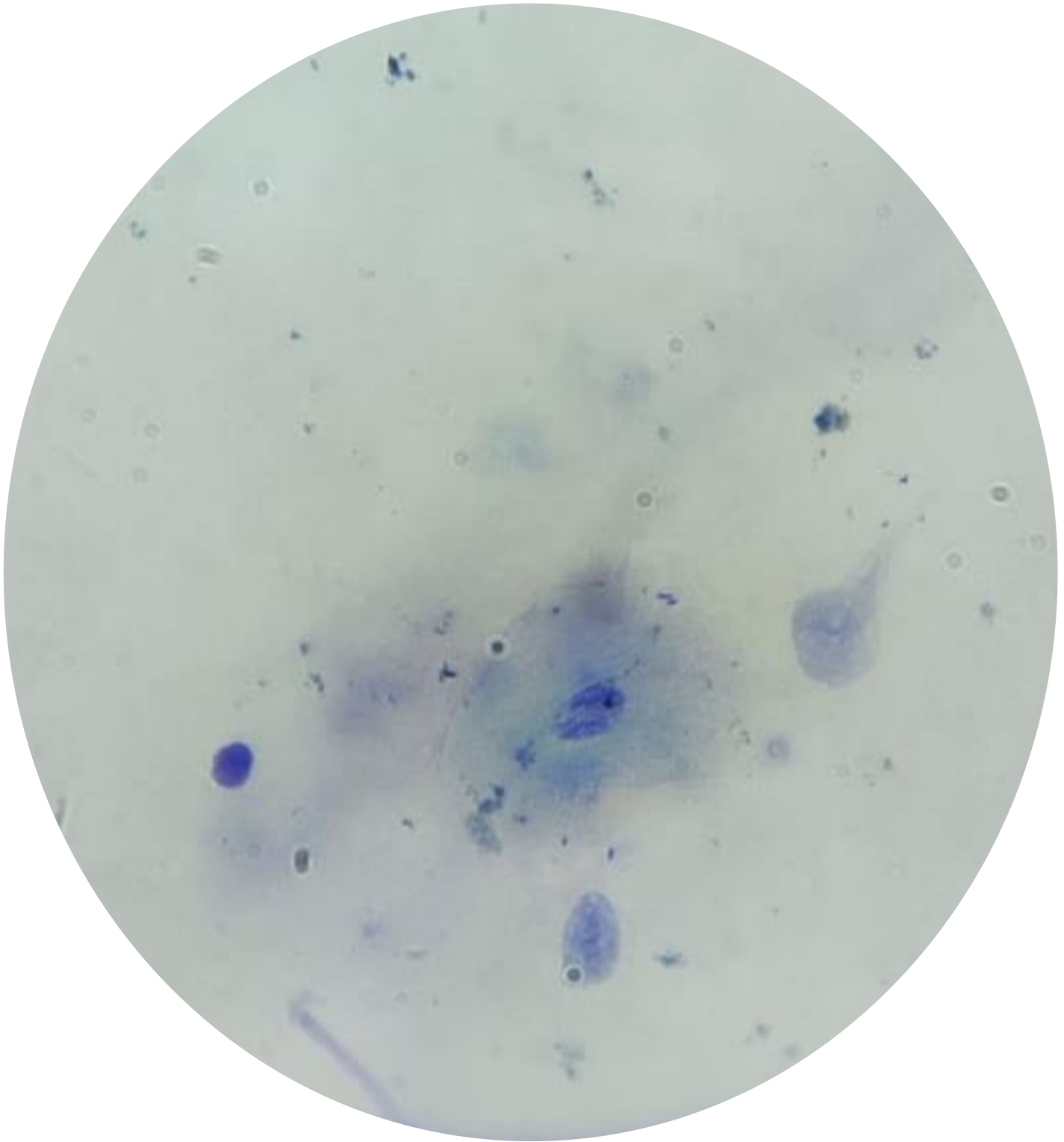
P8

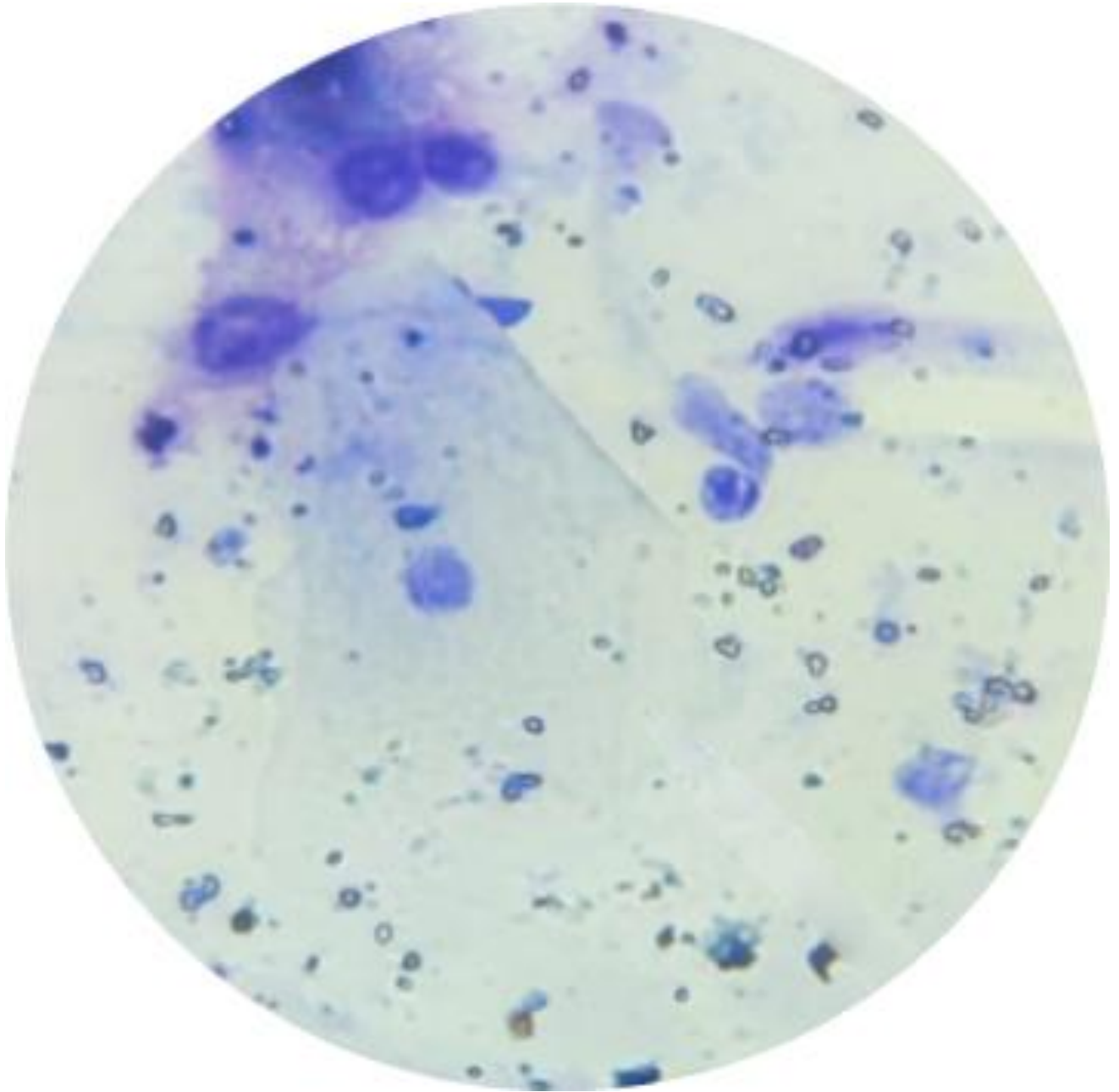
Psittacara wagleri

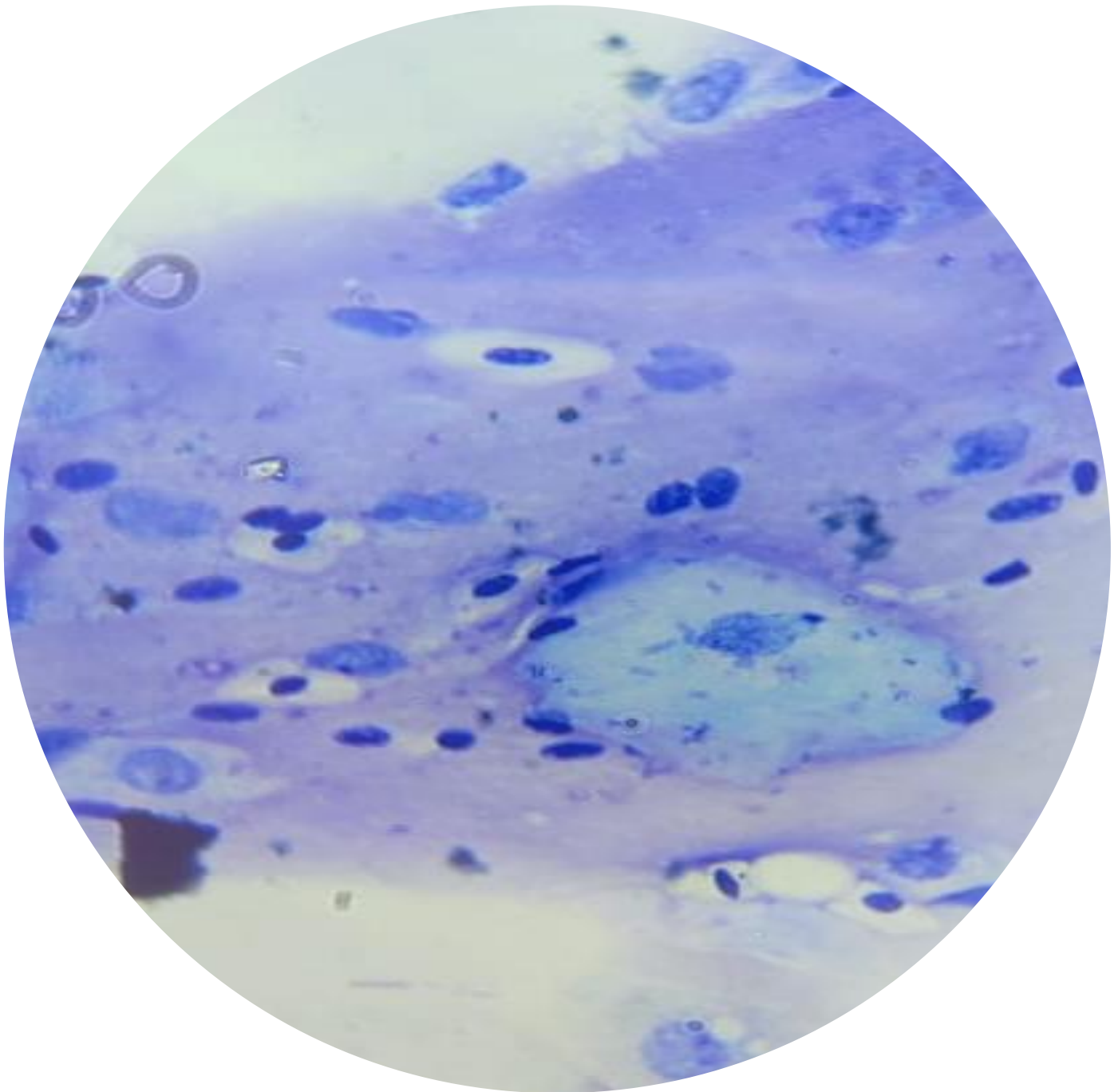
HEMBRA







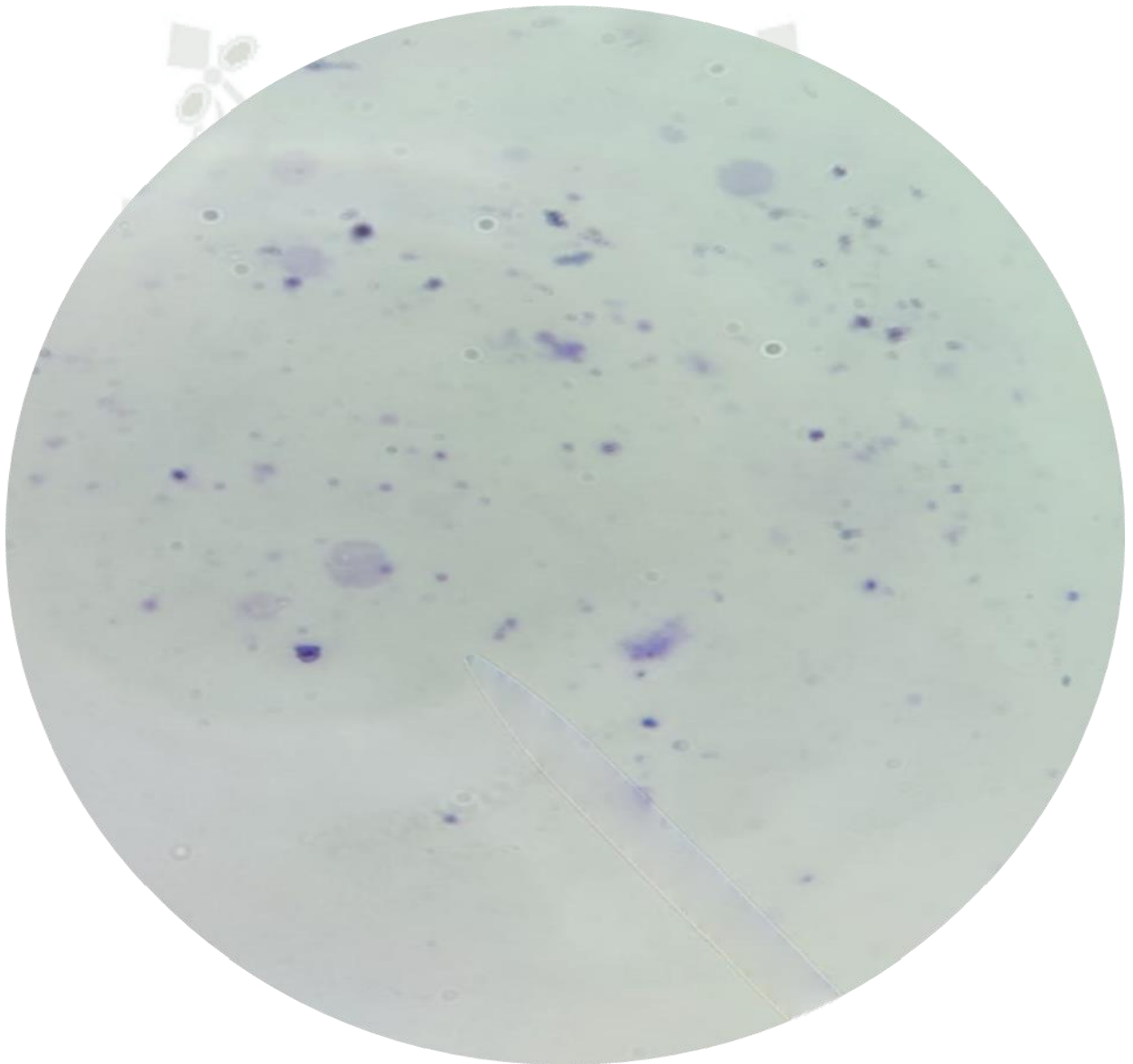


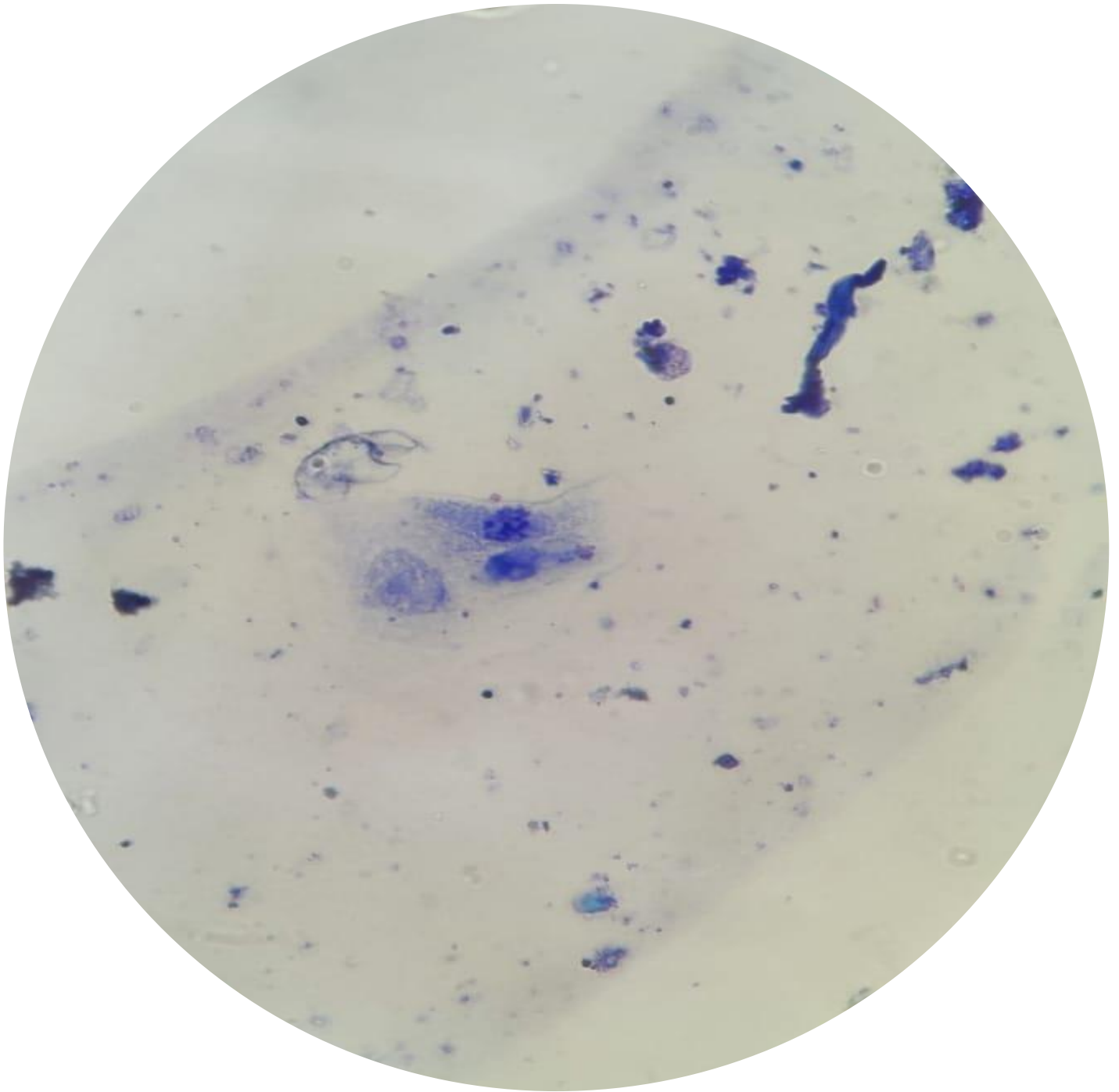


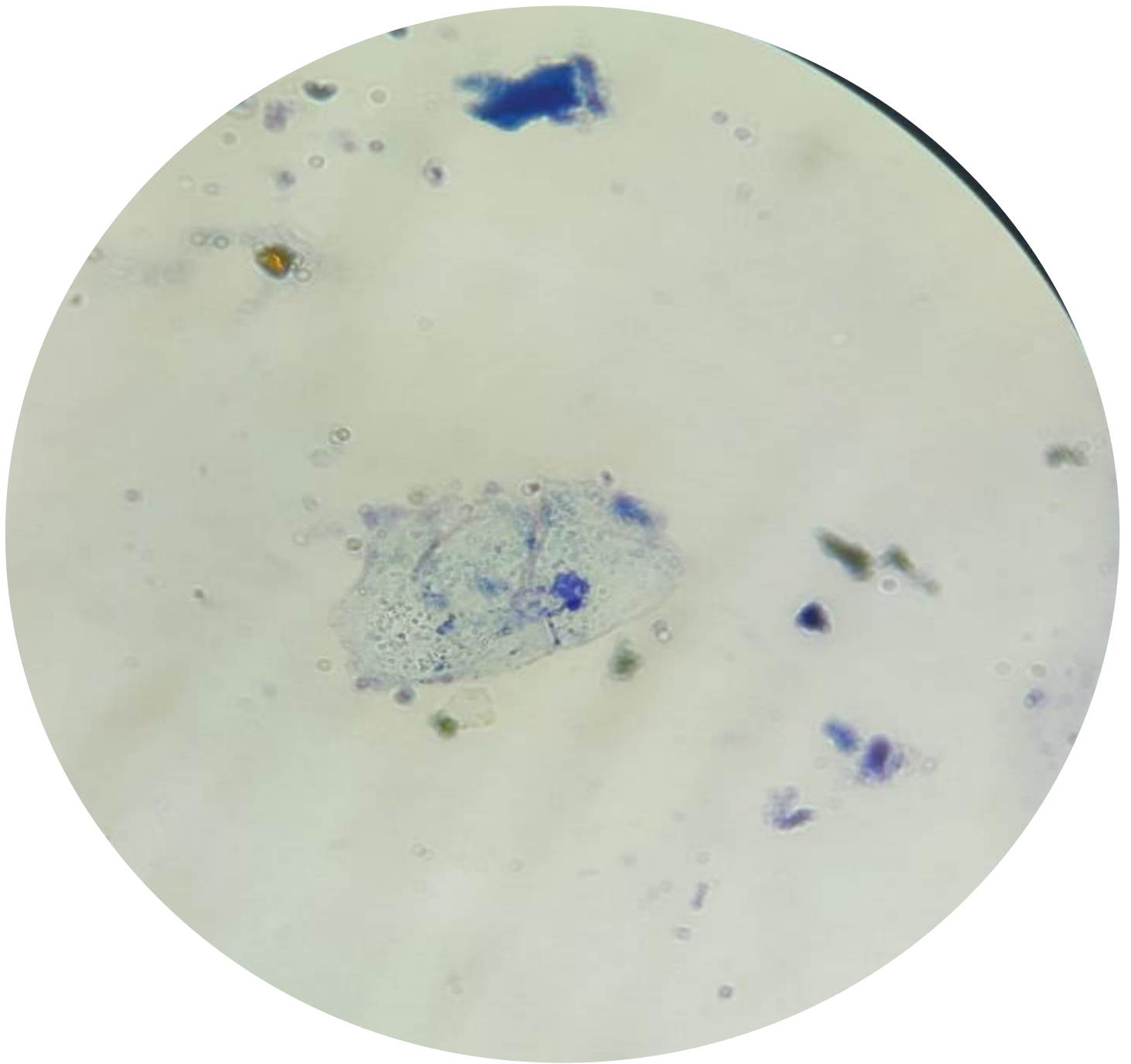
P9

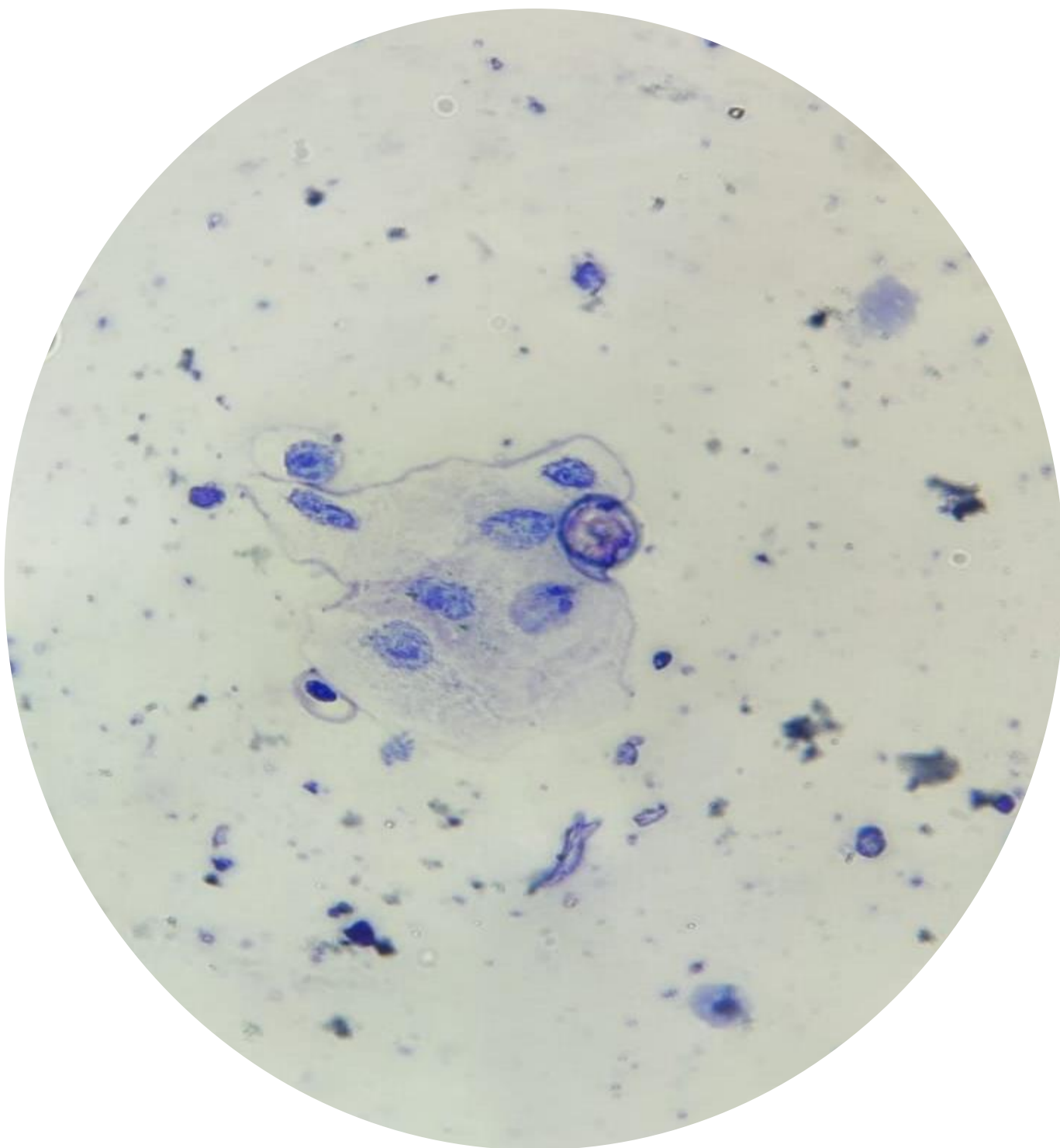
Psittacara erythrogenys

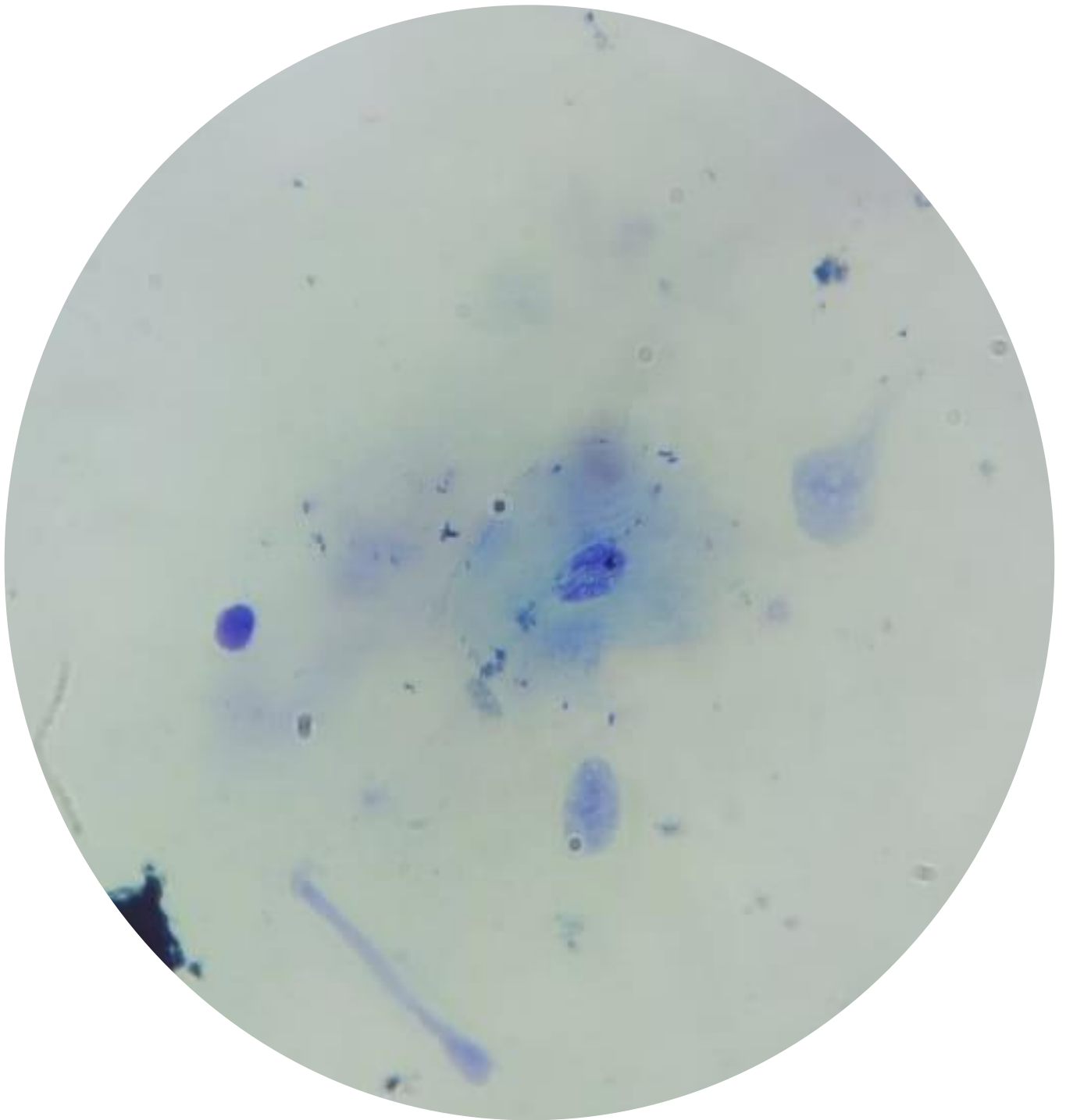
HEMBRA

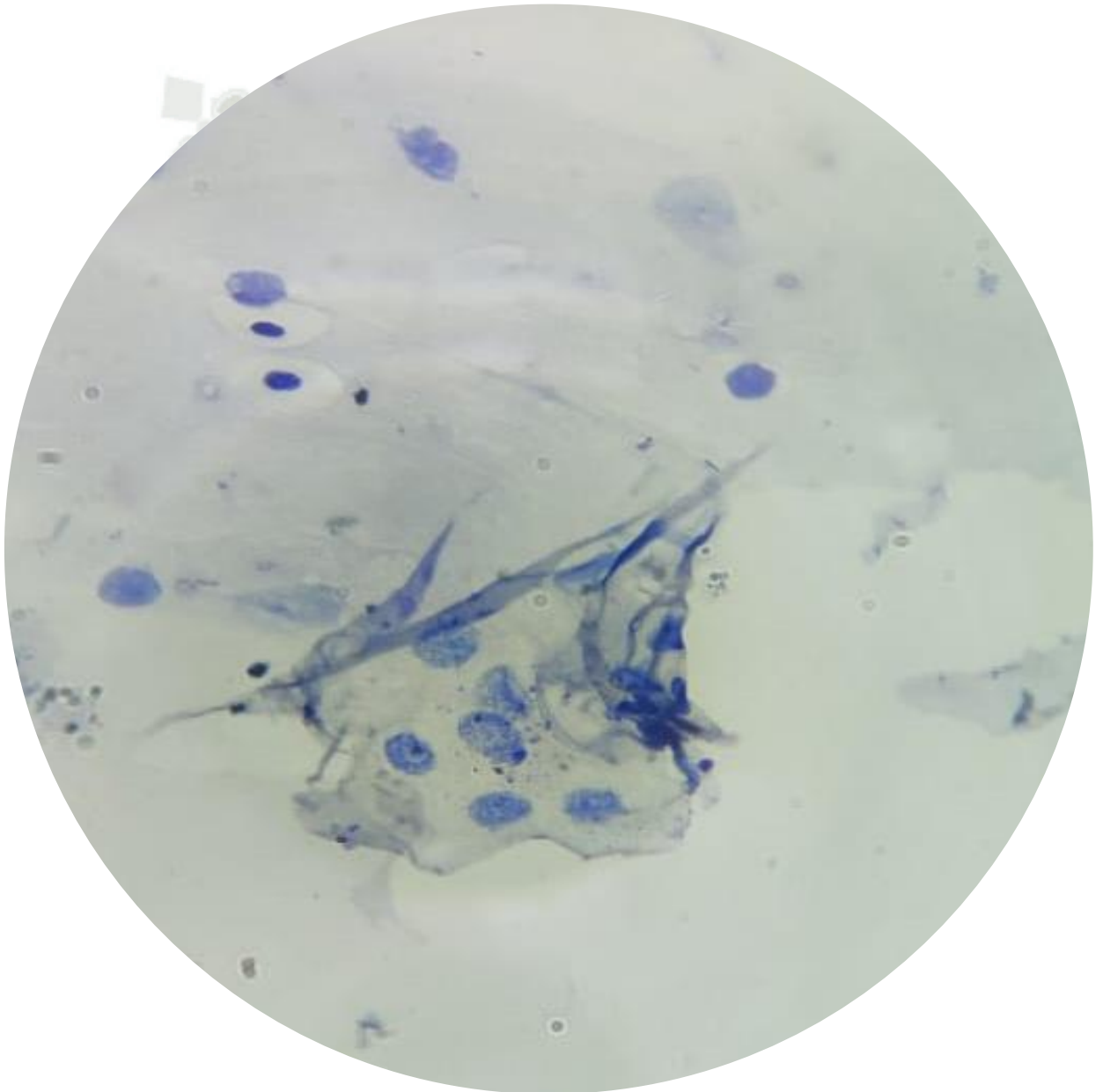


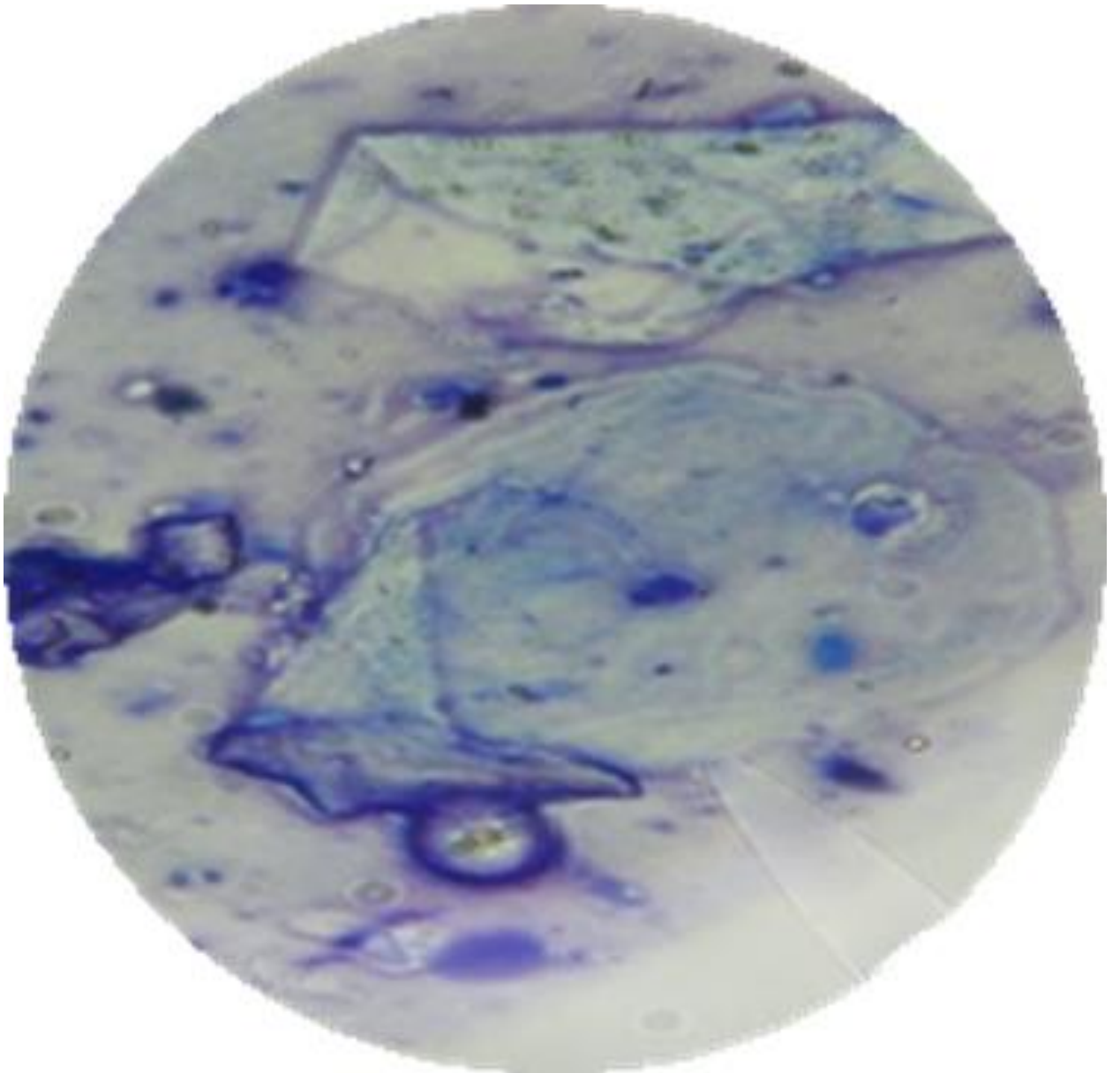








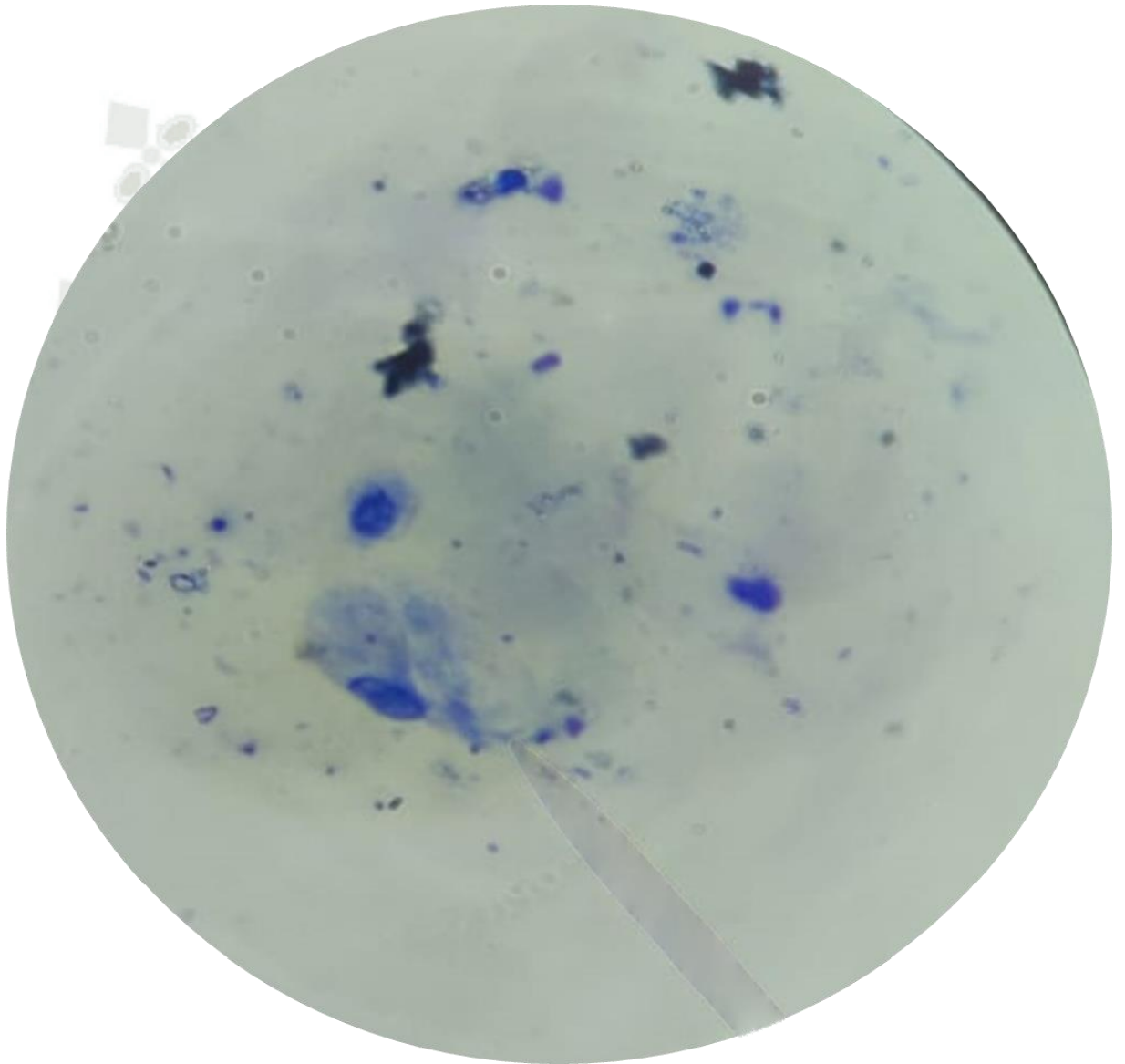


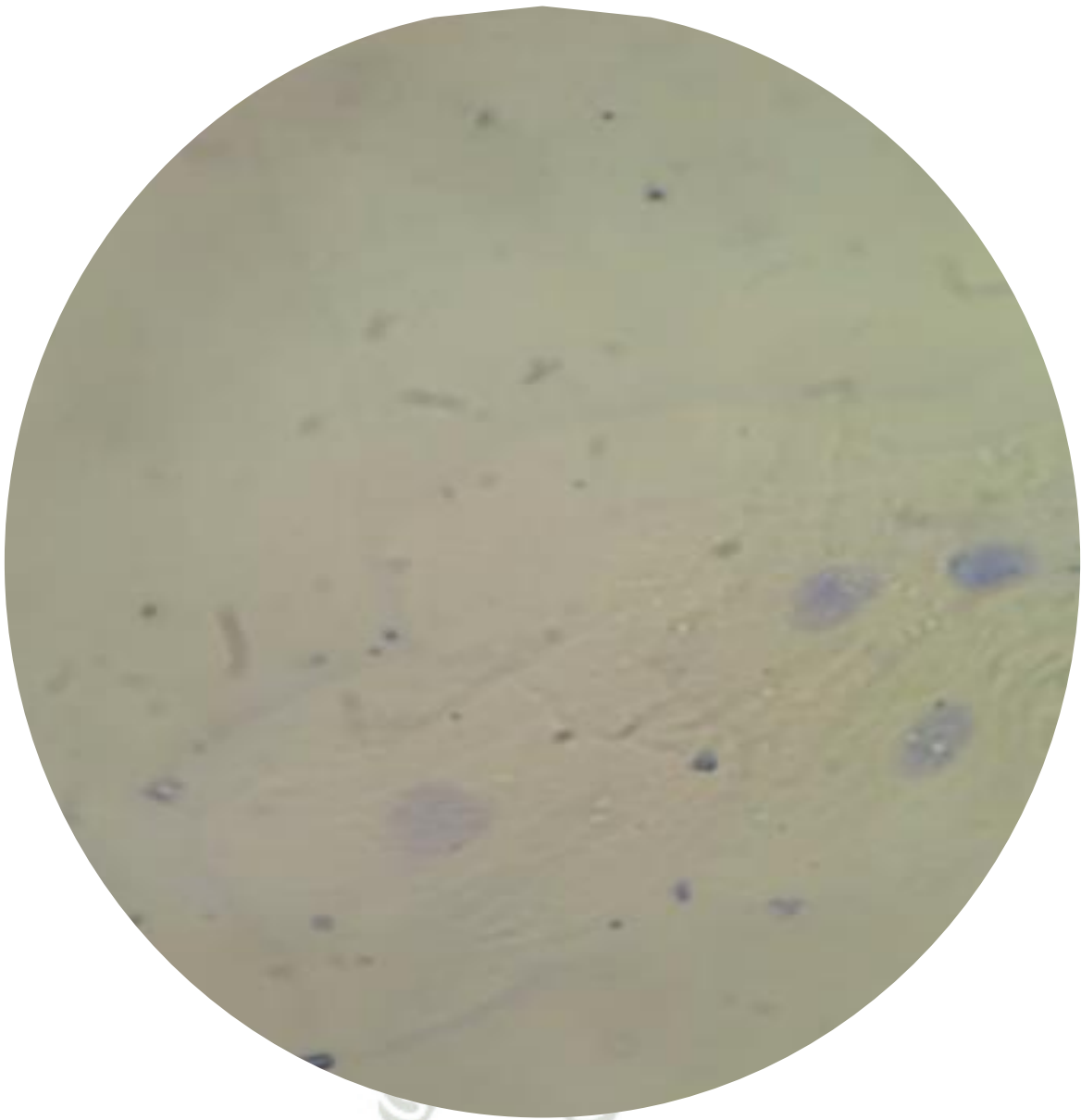


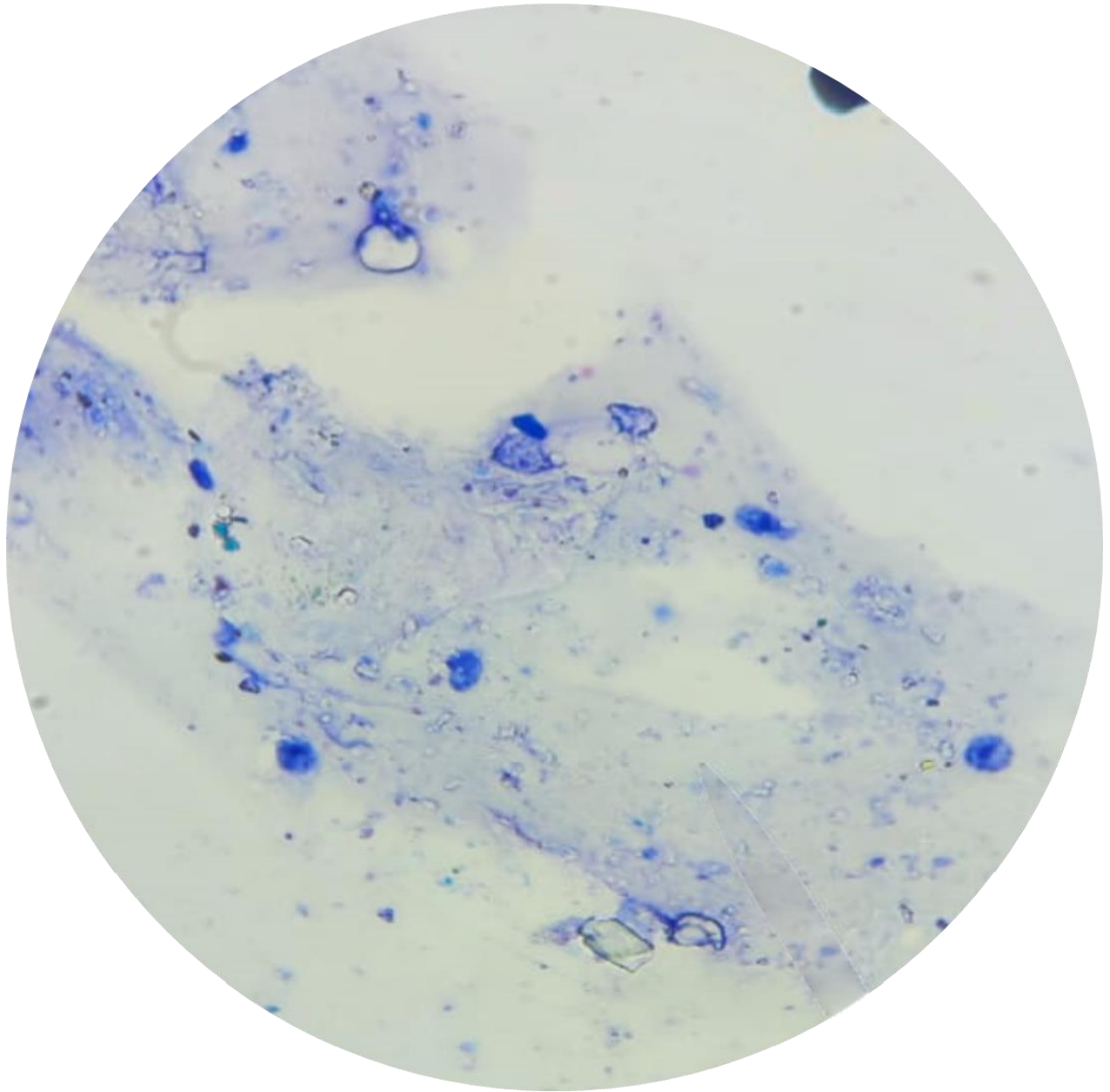
P10

Psittacara erythrogenys

HEMBRA



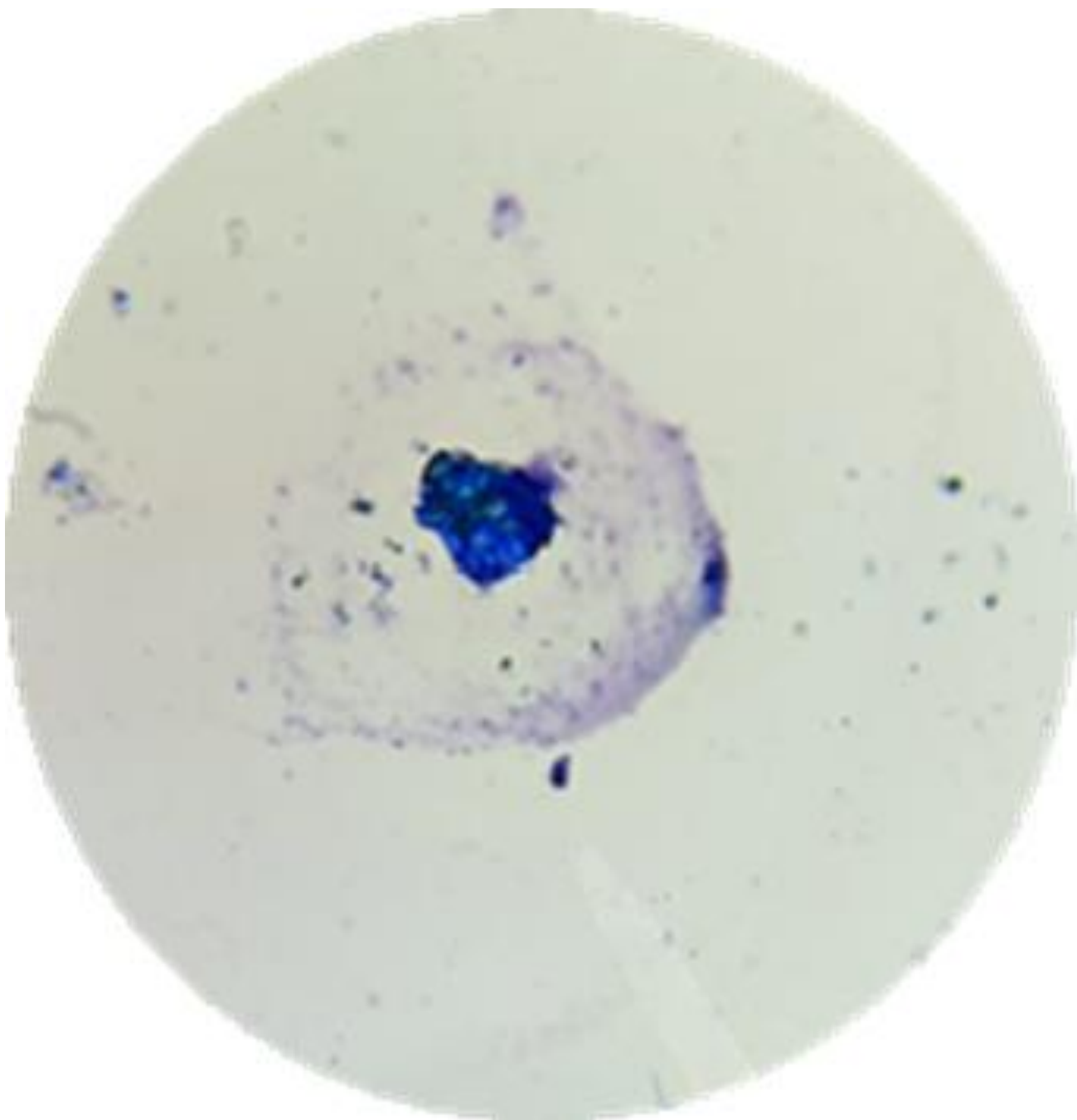


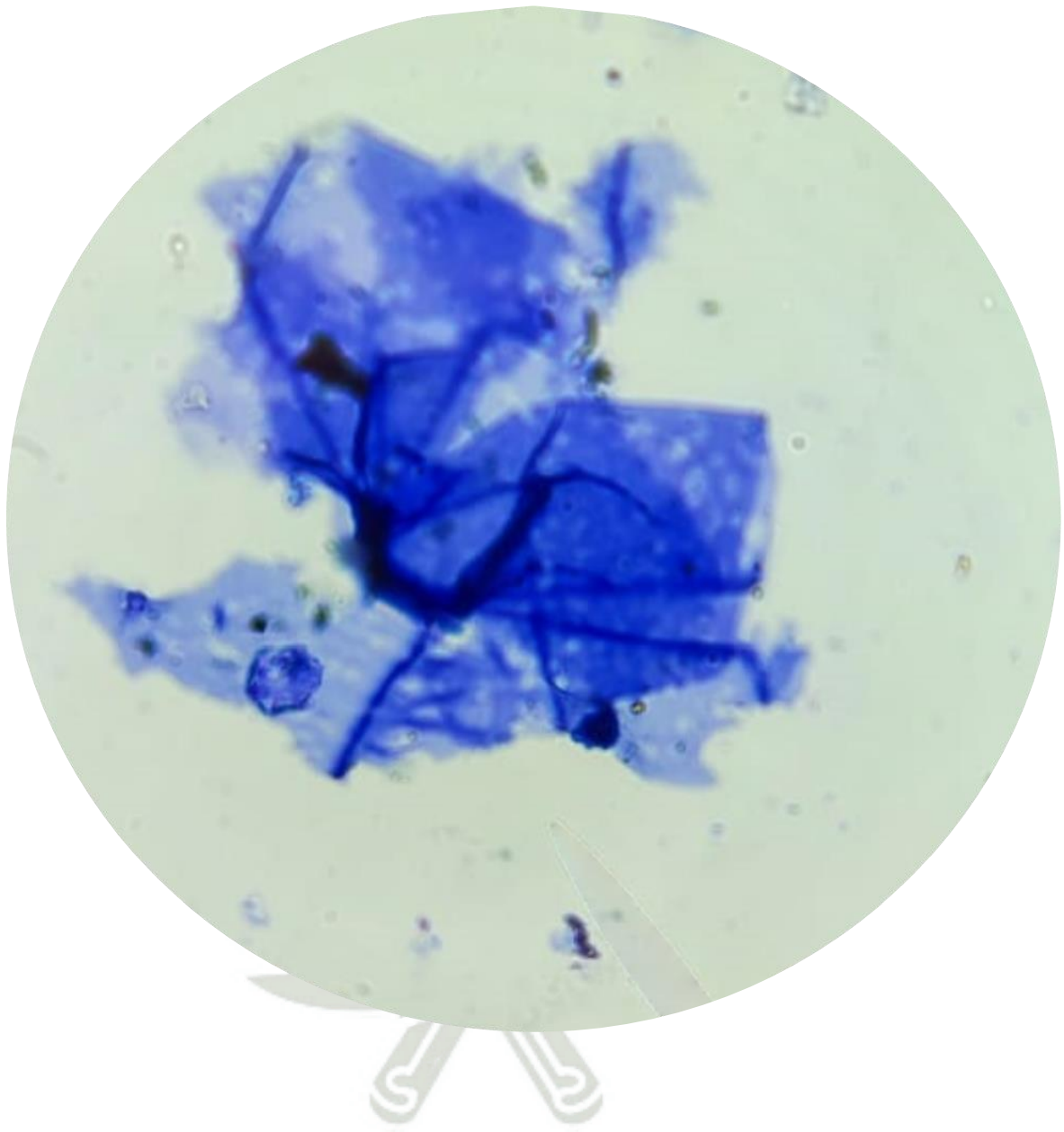


P11

Psittacara wagleri

MACHO

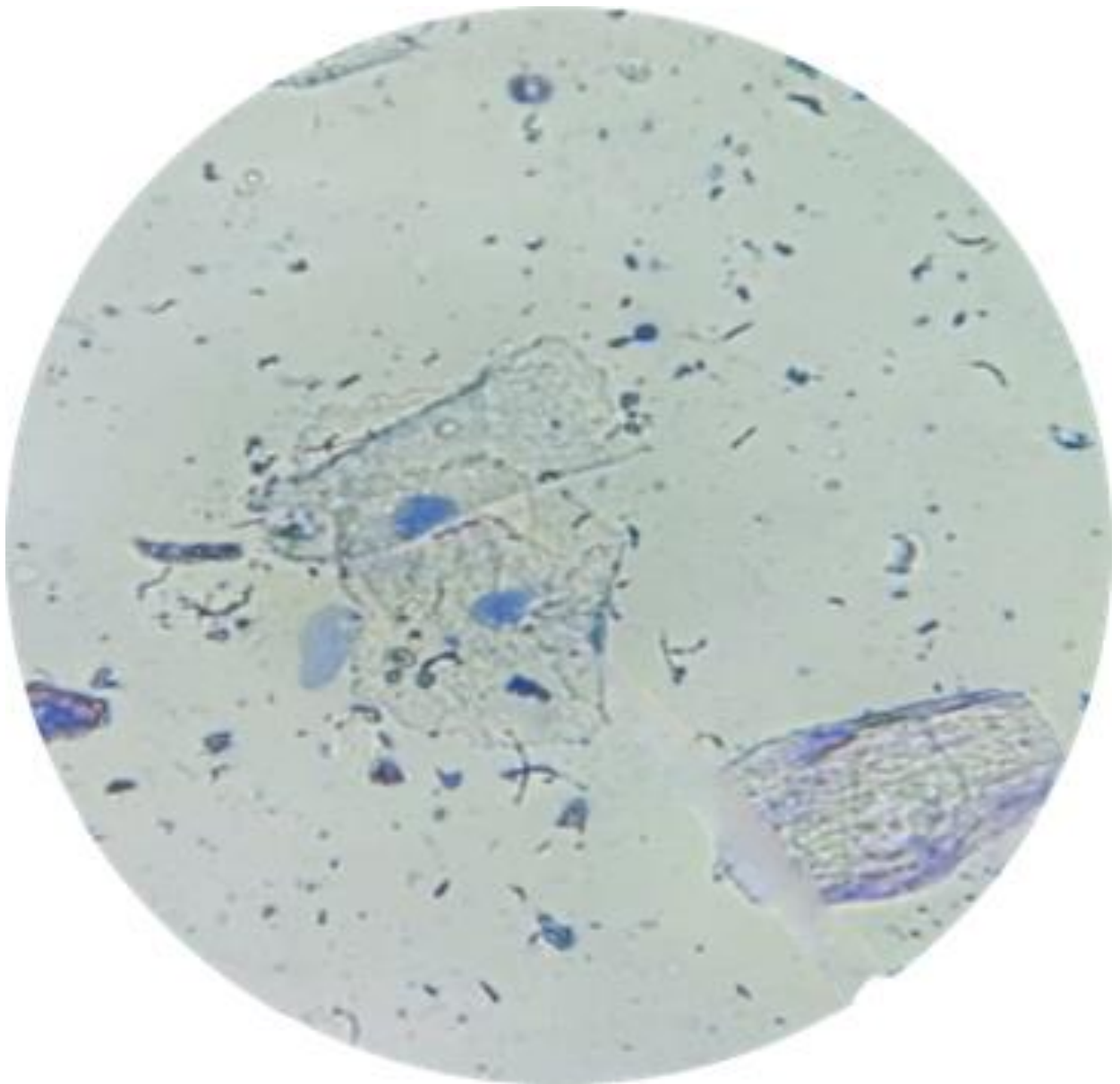


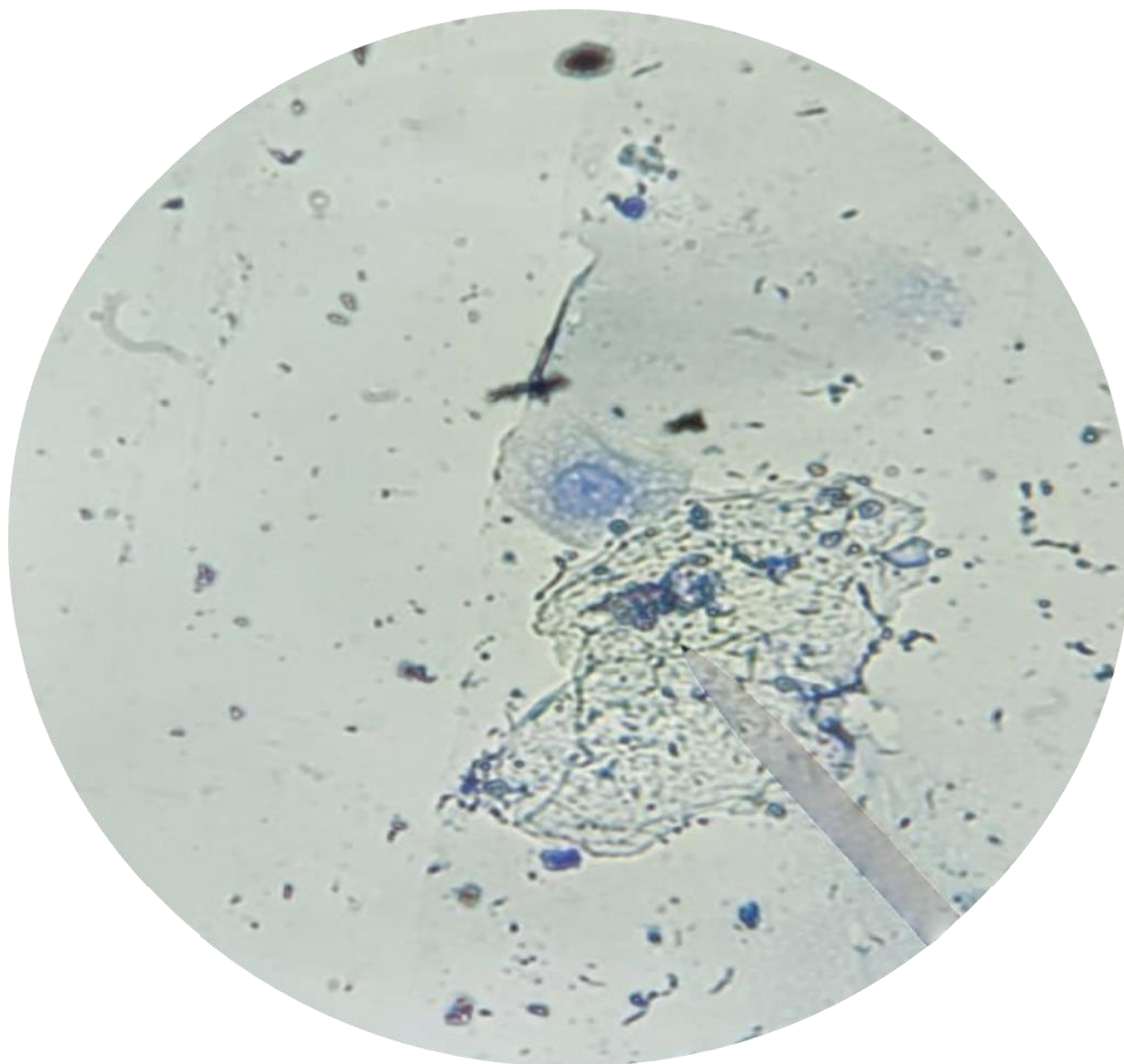


P12

Psittacara Erythrogenys

MACHO



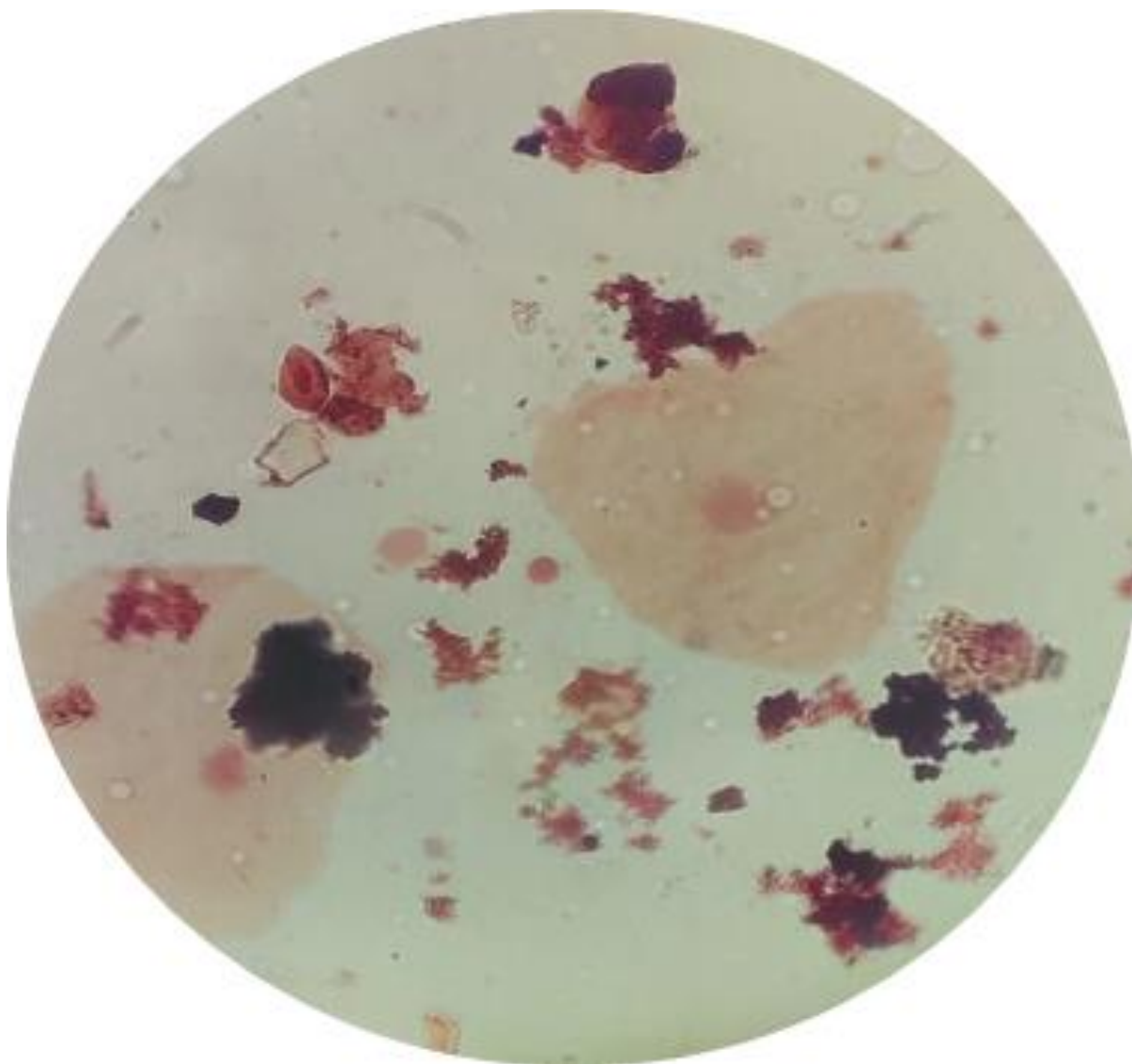


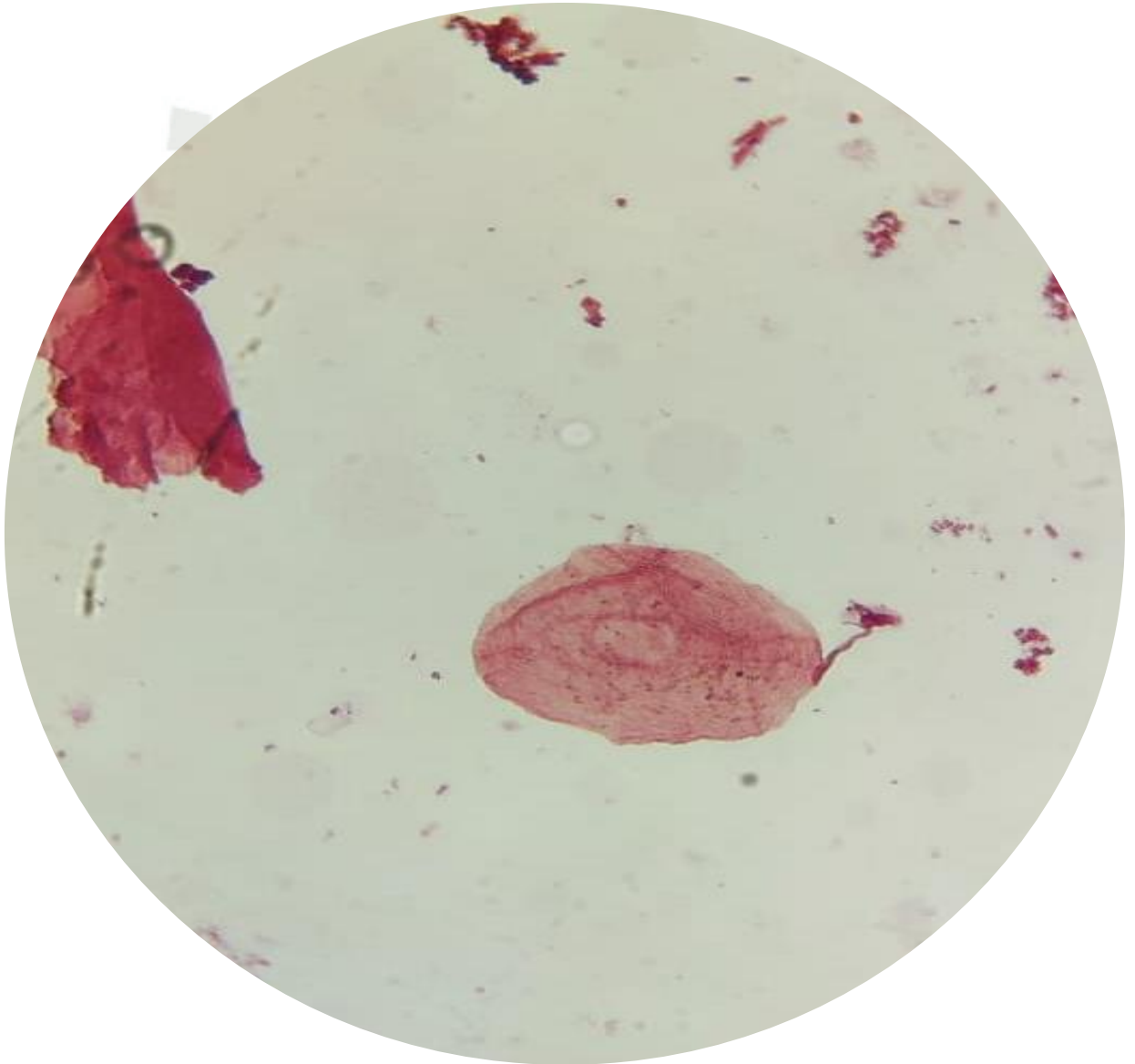
Anexo 7. Resultado Feugel

P1

Psittacara erythrogenys

MACHO

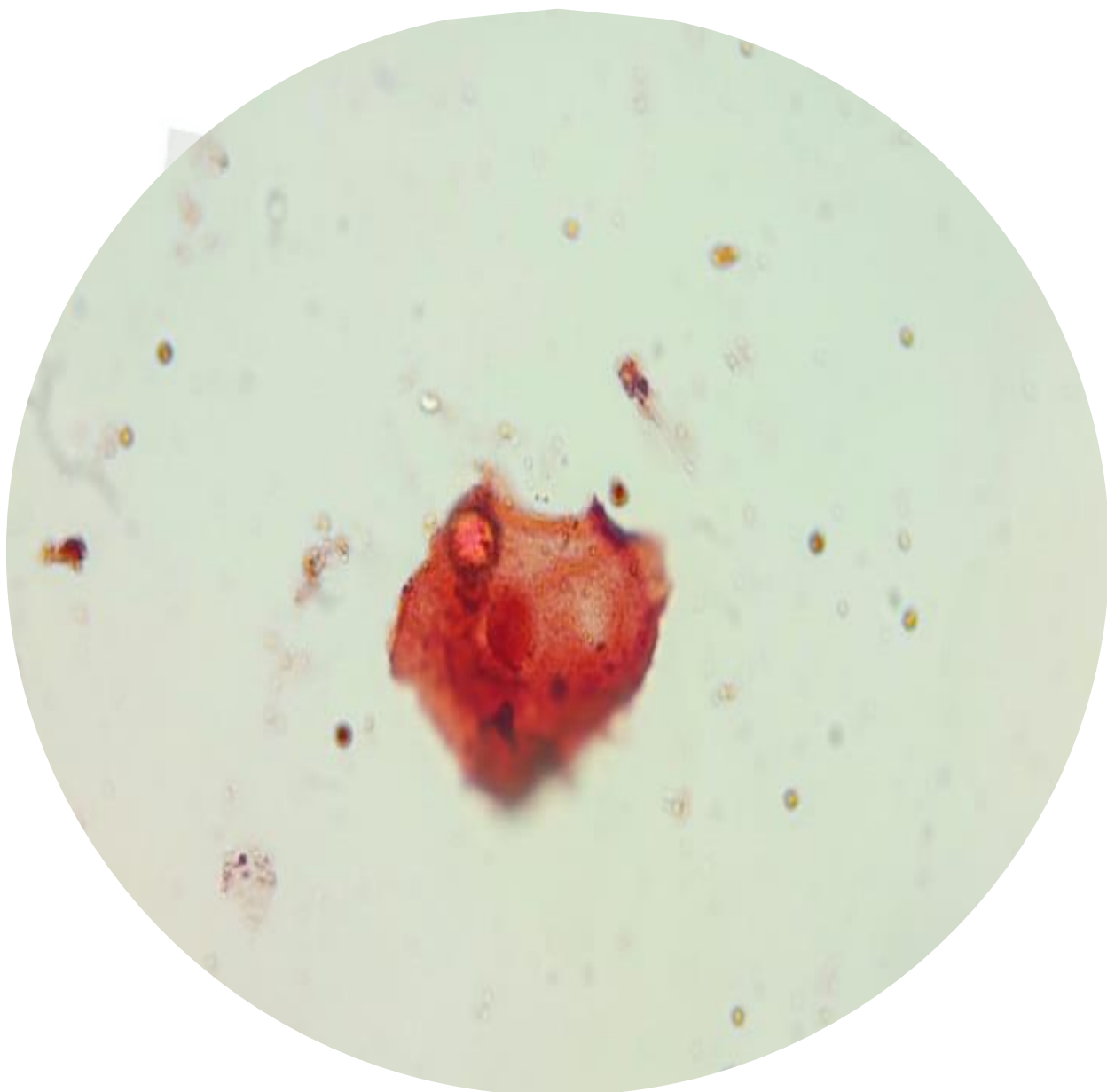


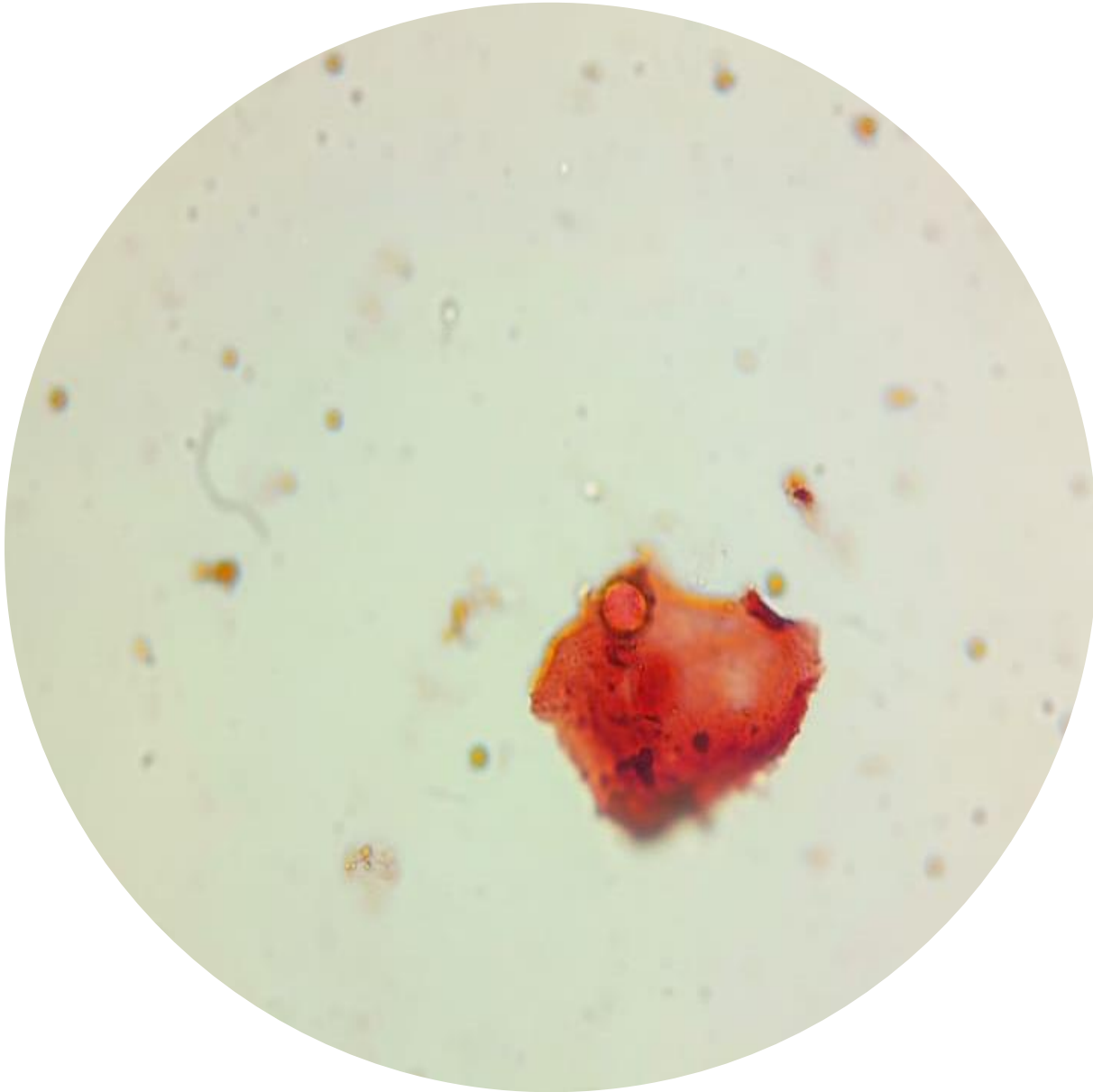


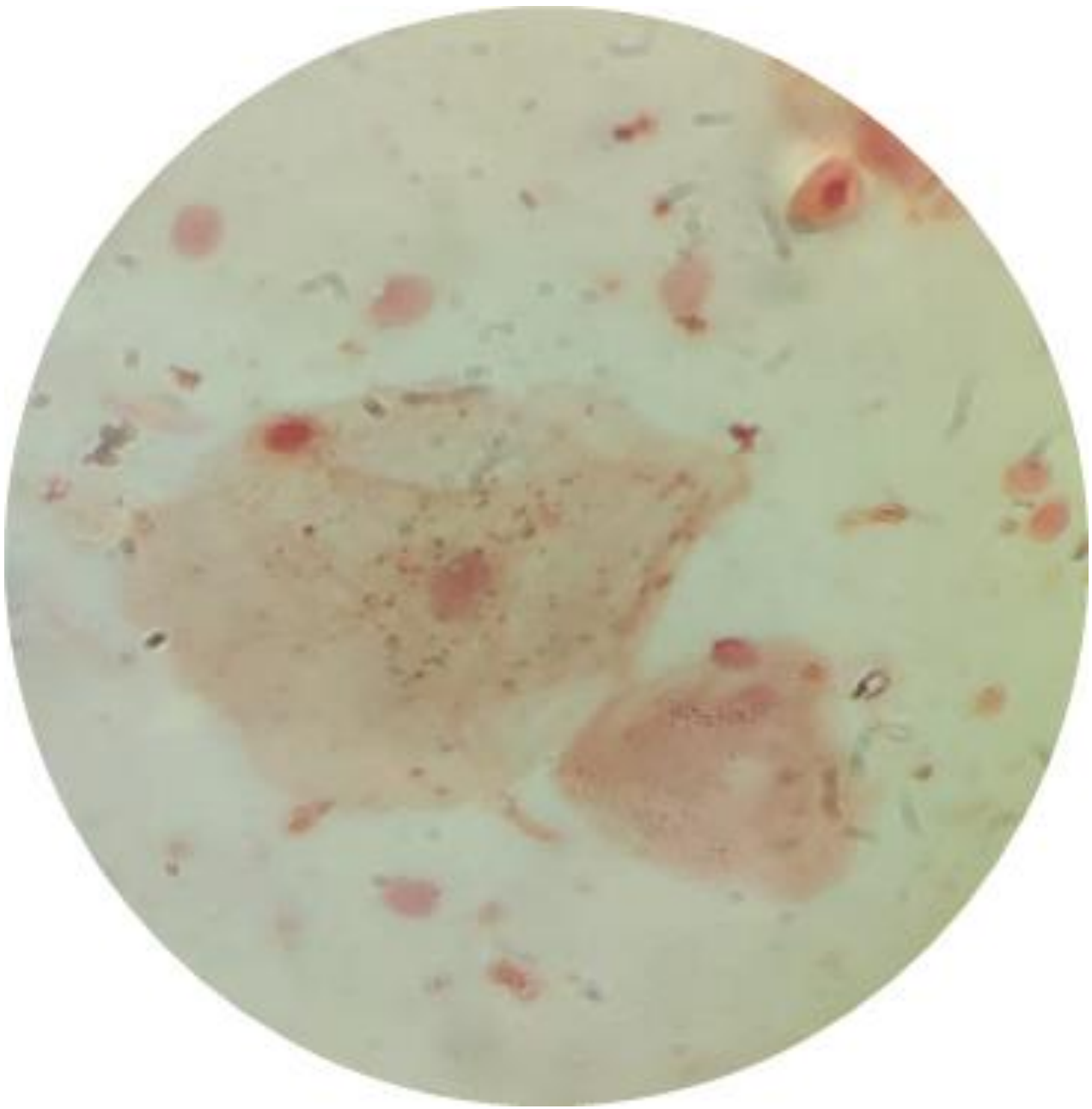
P2

Psittacara wagleri

HEMBRA



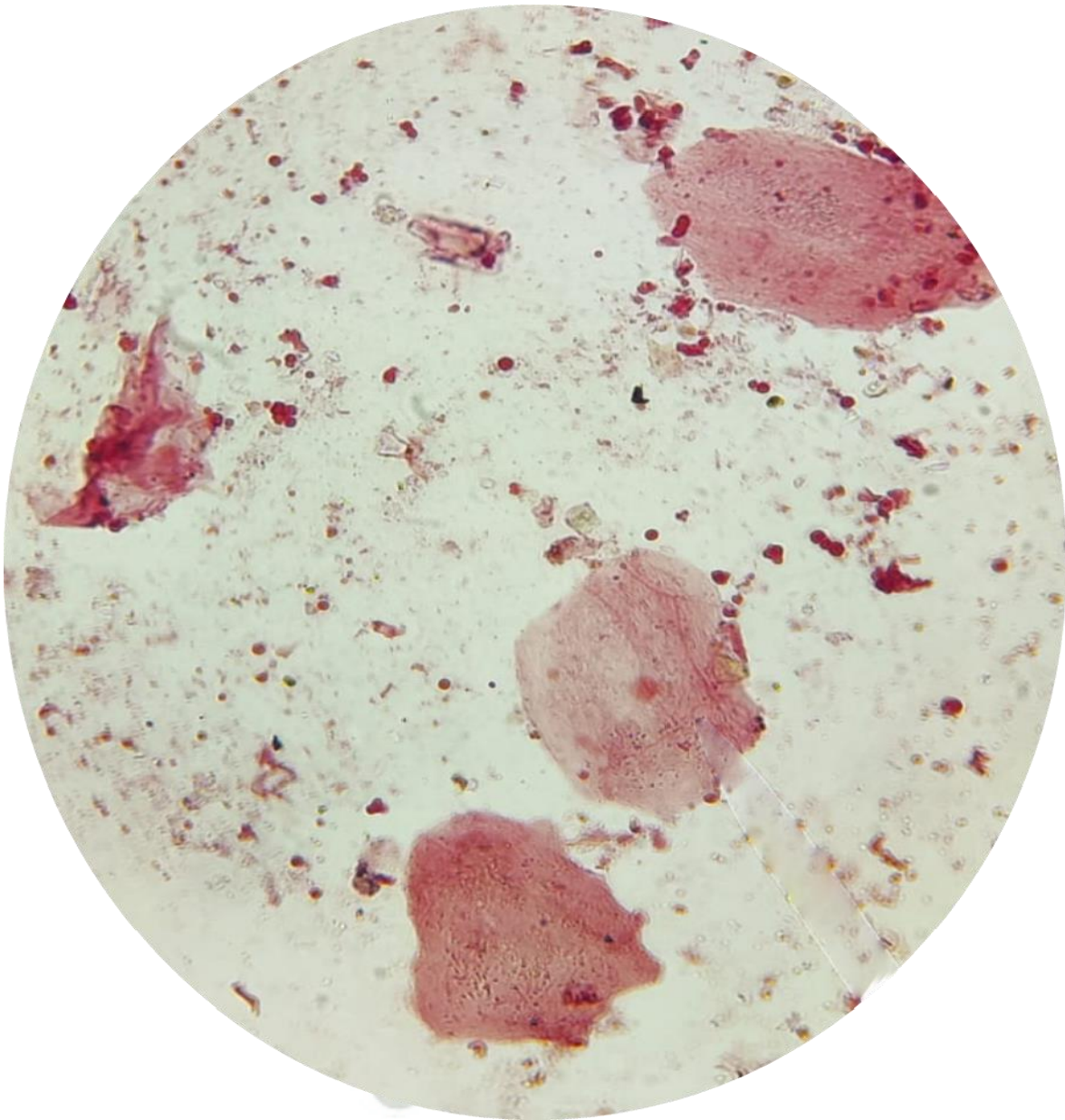


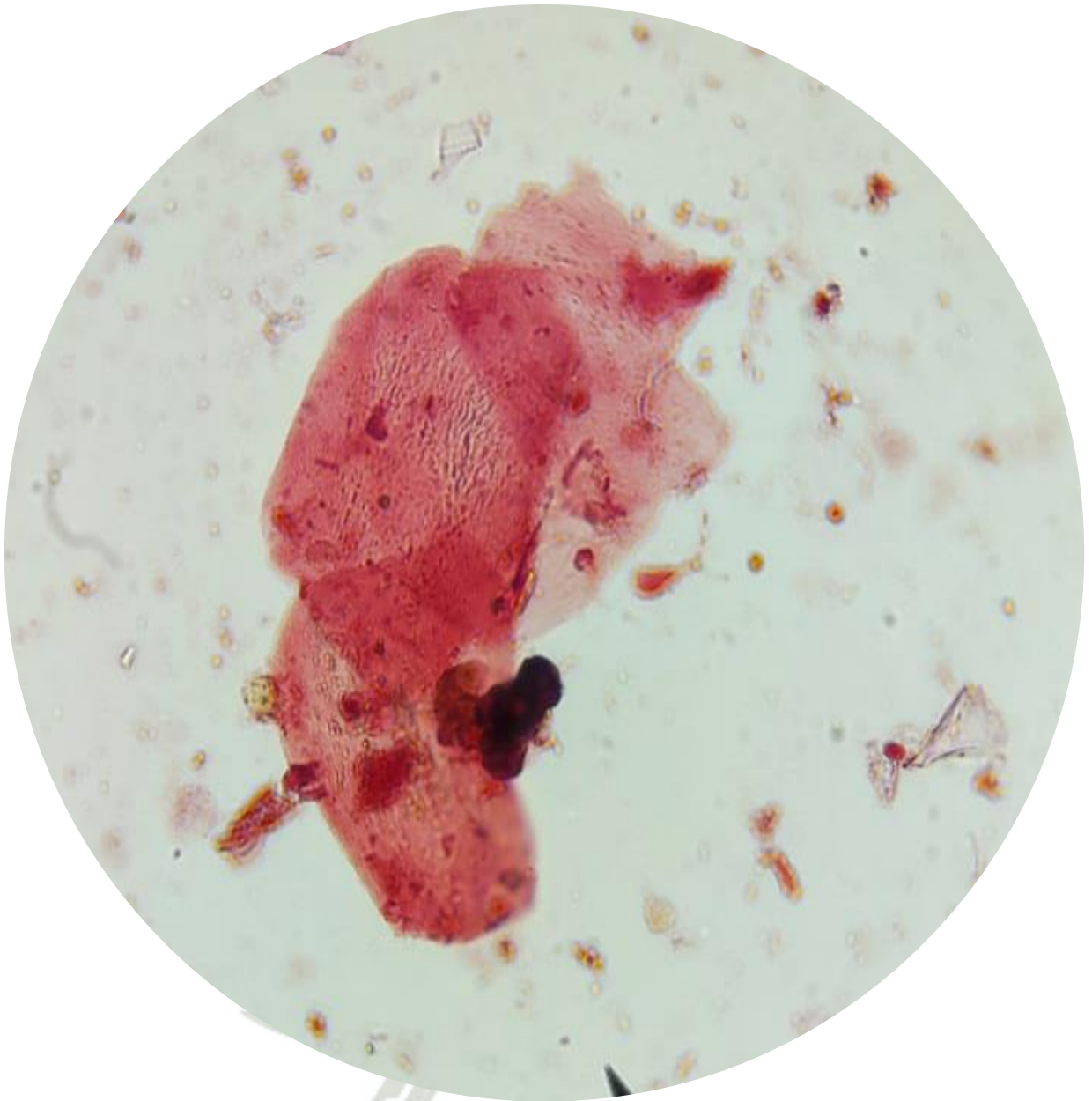


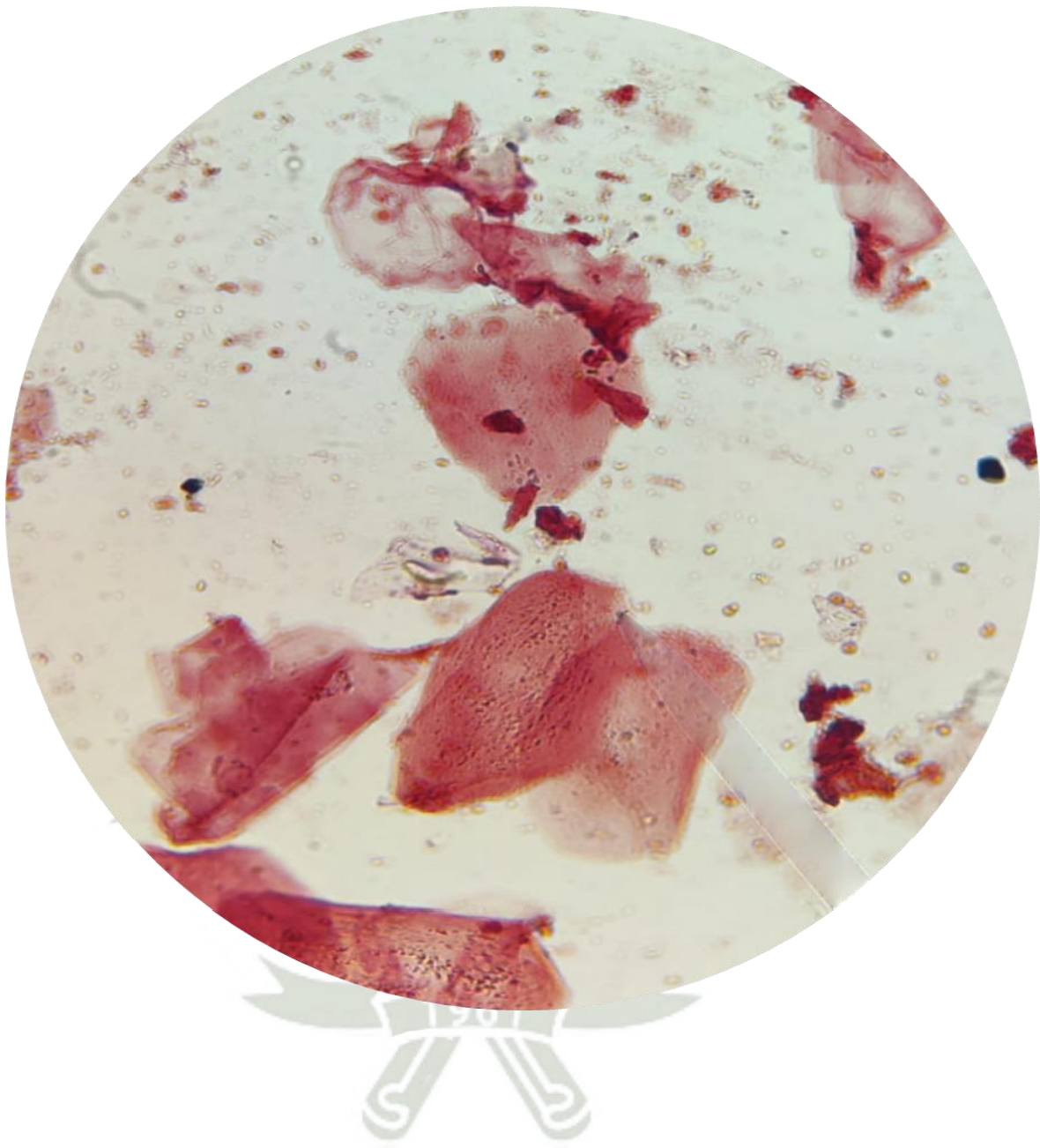
P3

Psittacara wagleri

MACHO



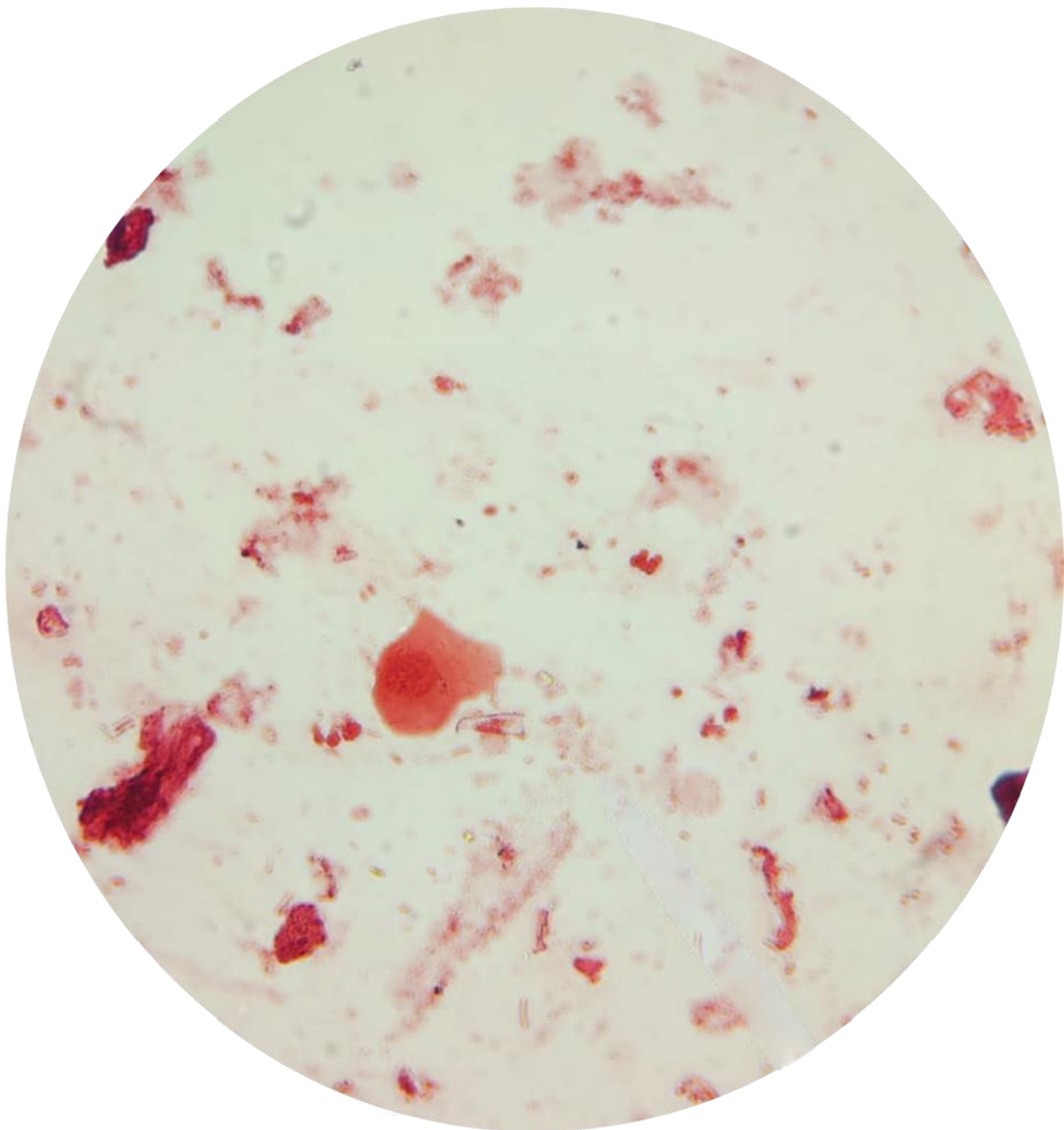


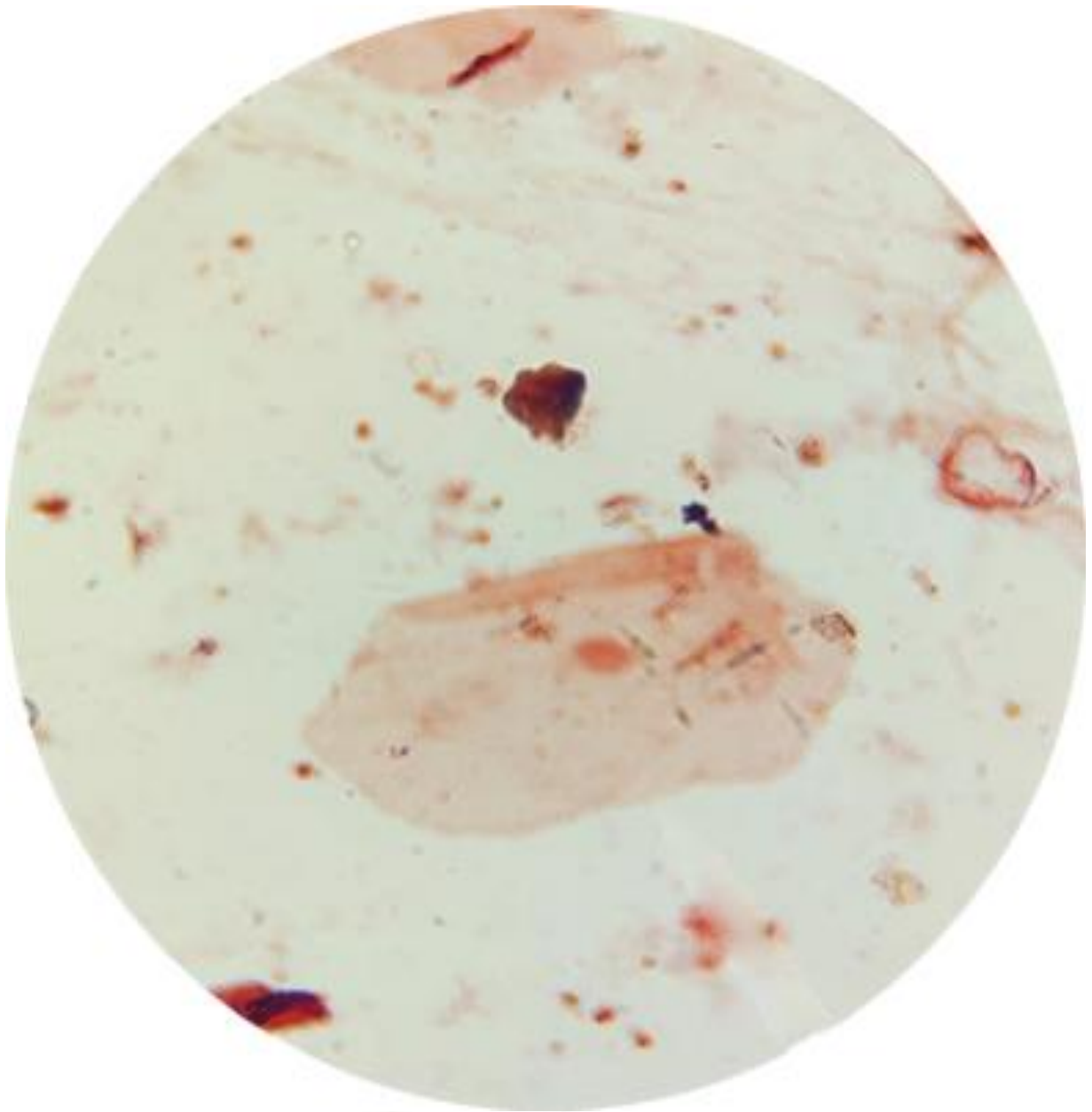


P4

Psittacara erythrogenys

MACHO

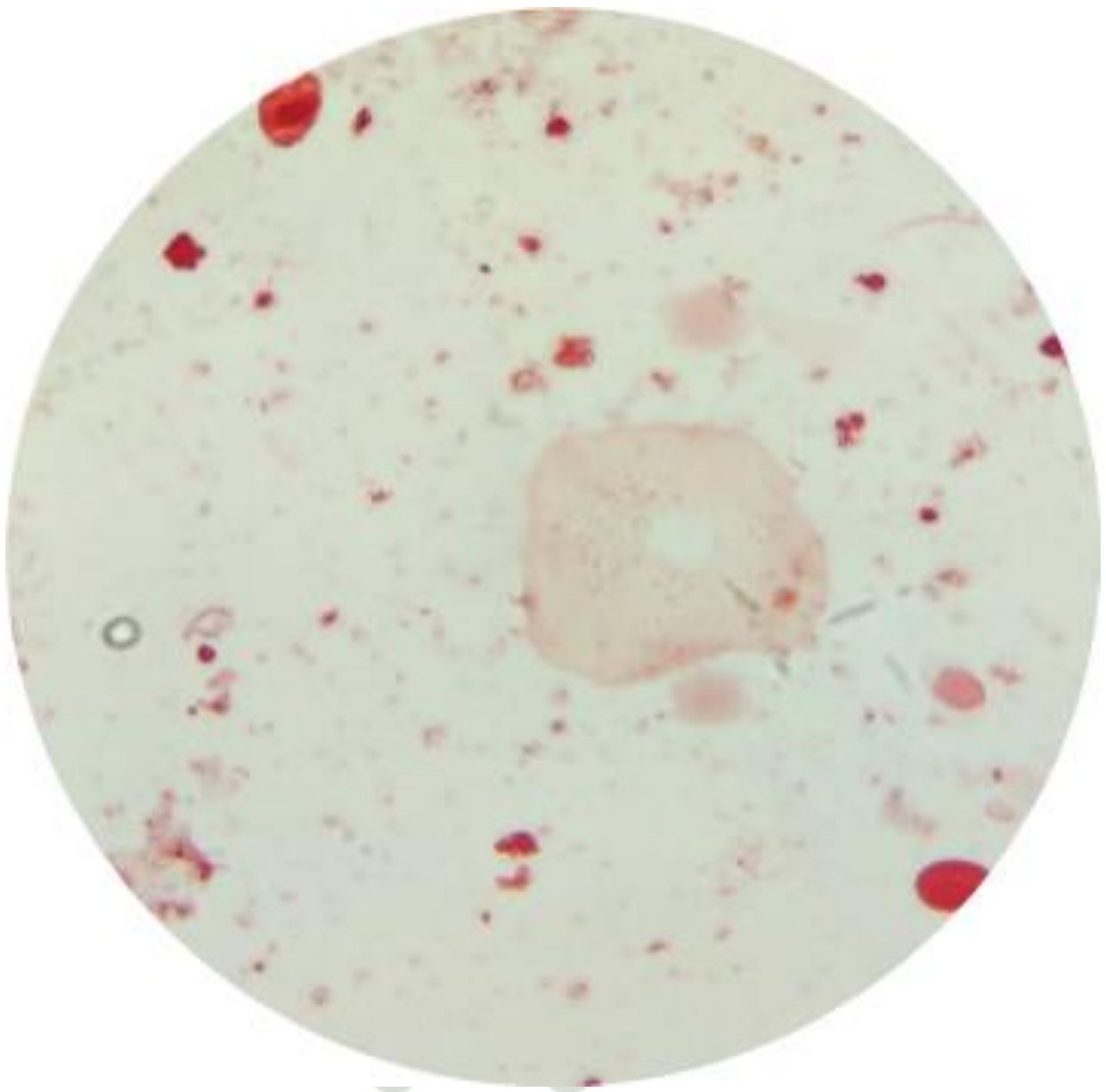


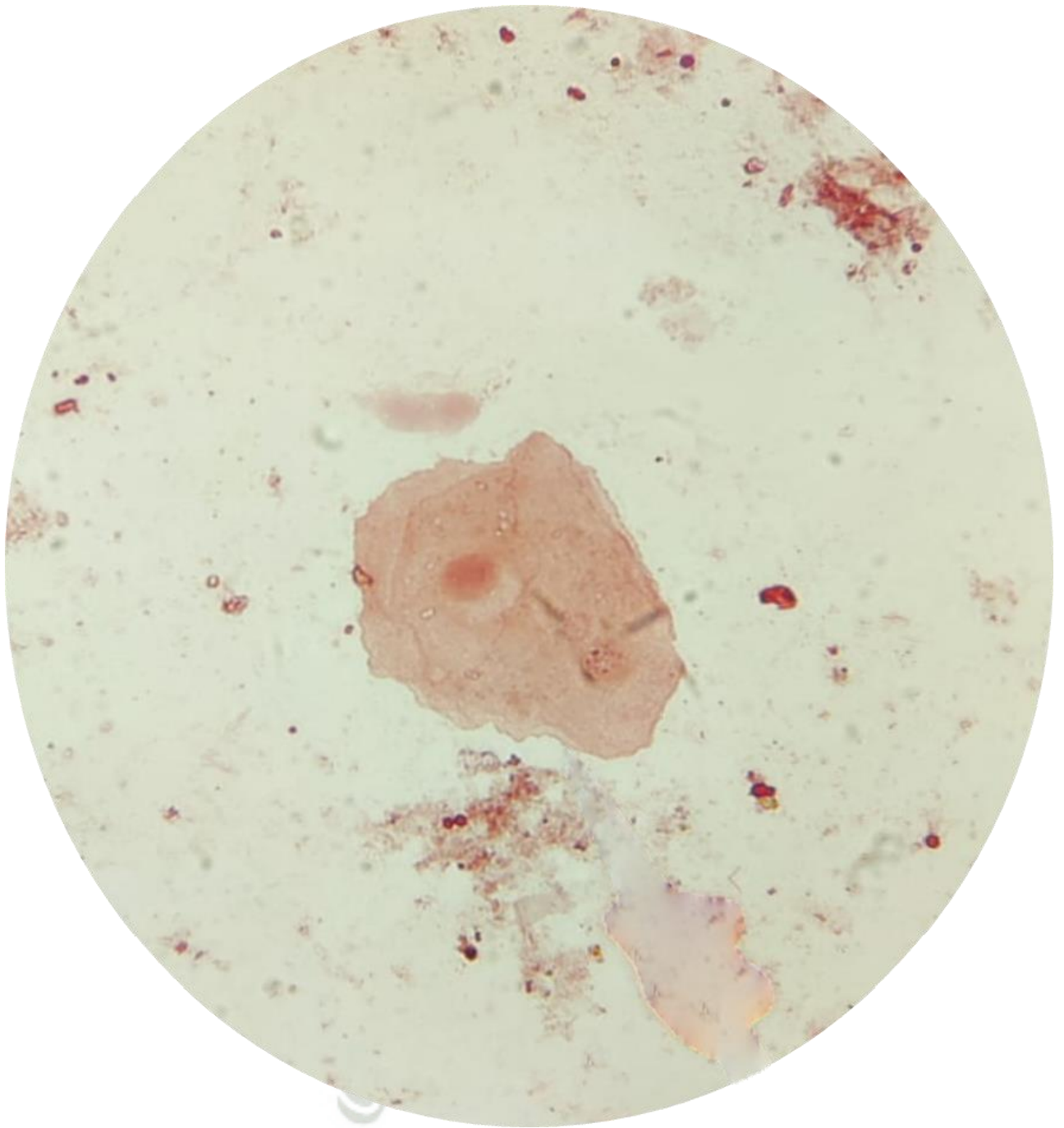


P5

Psittacara wagleri

MACHO

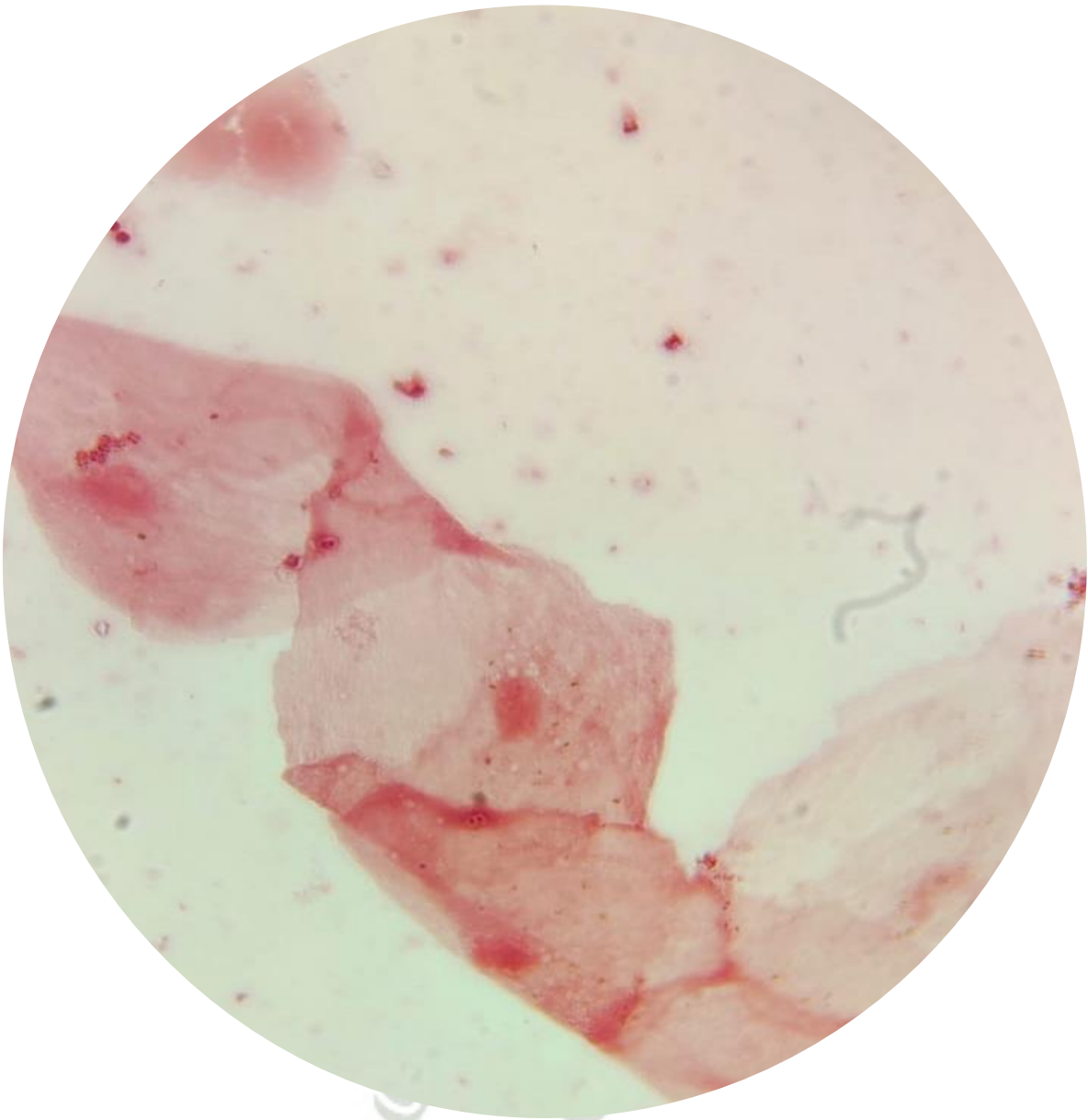


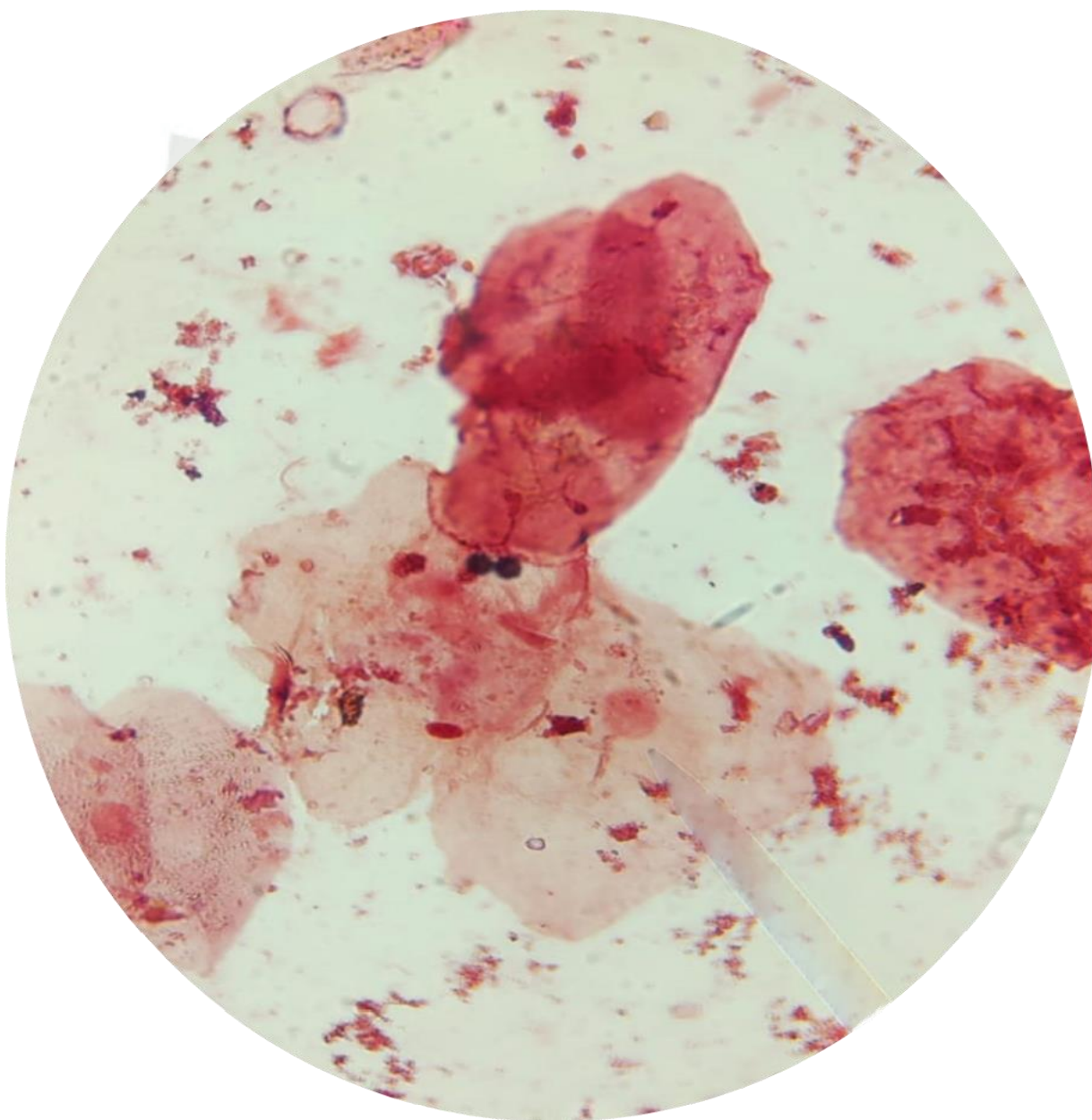


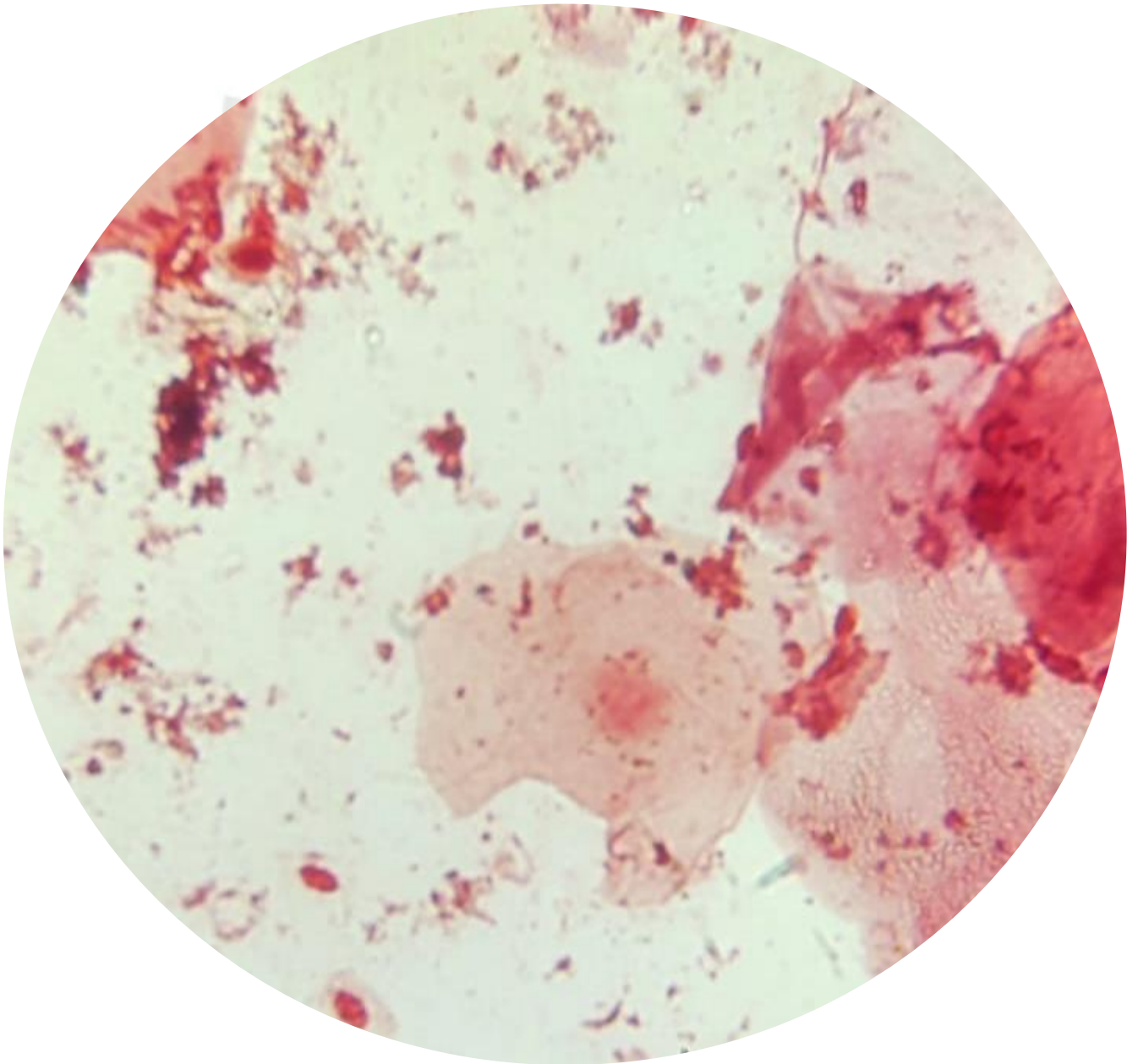
P6

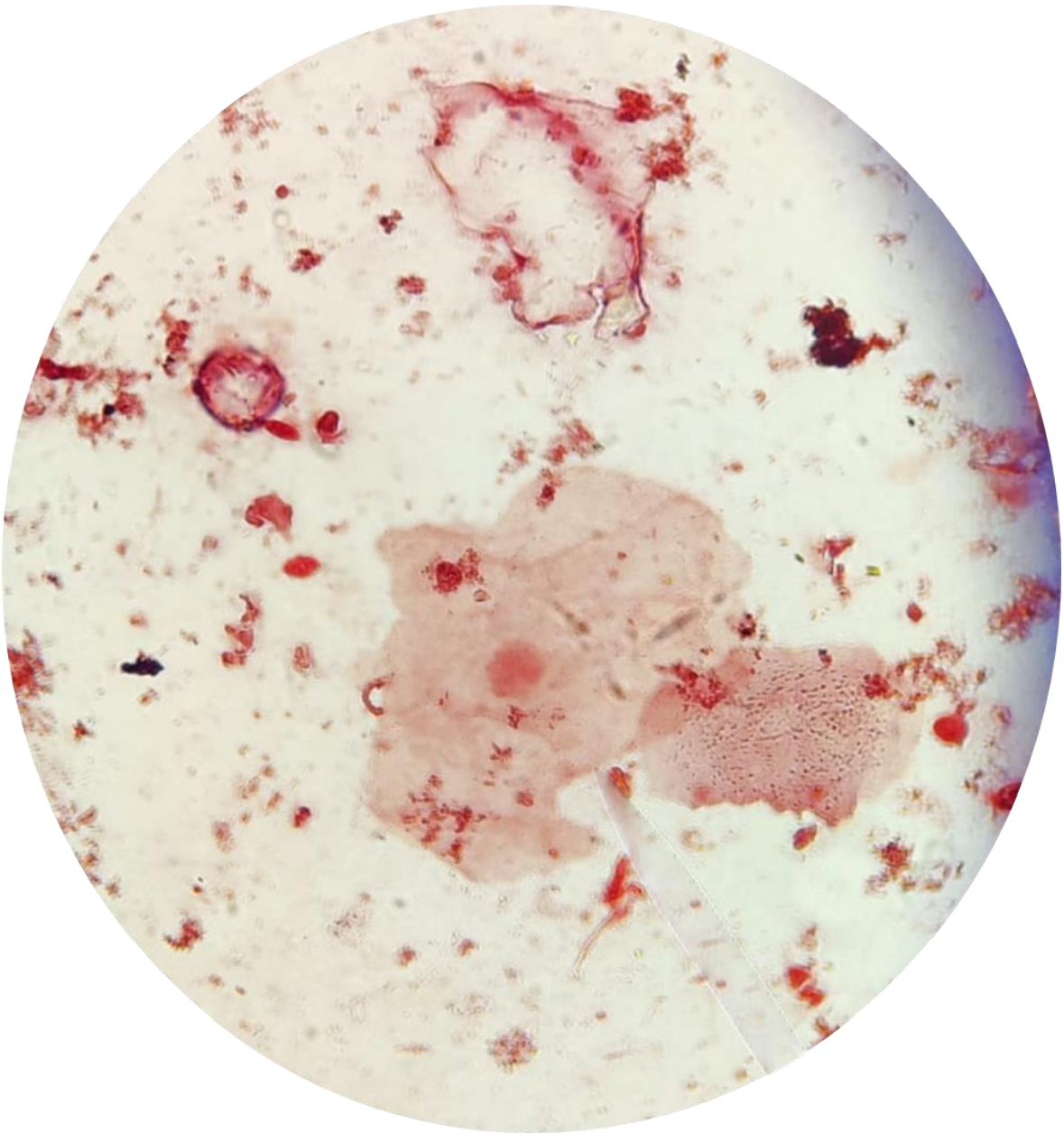
Psittacara wagleri

MACHO





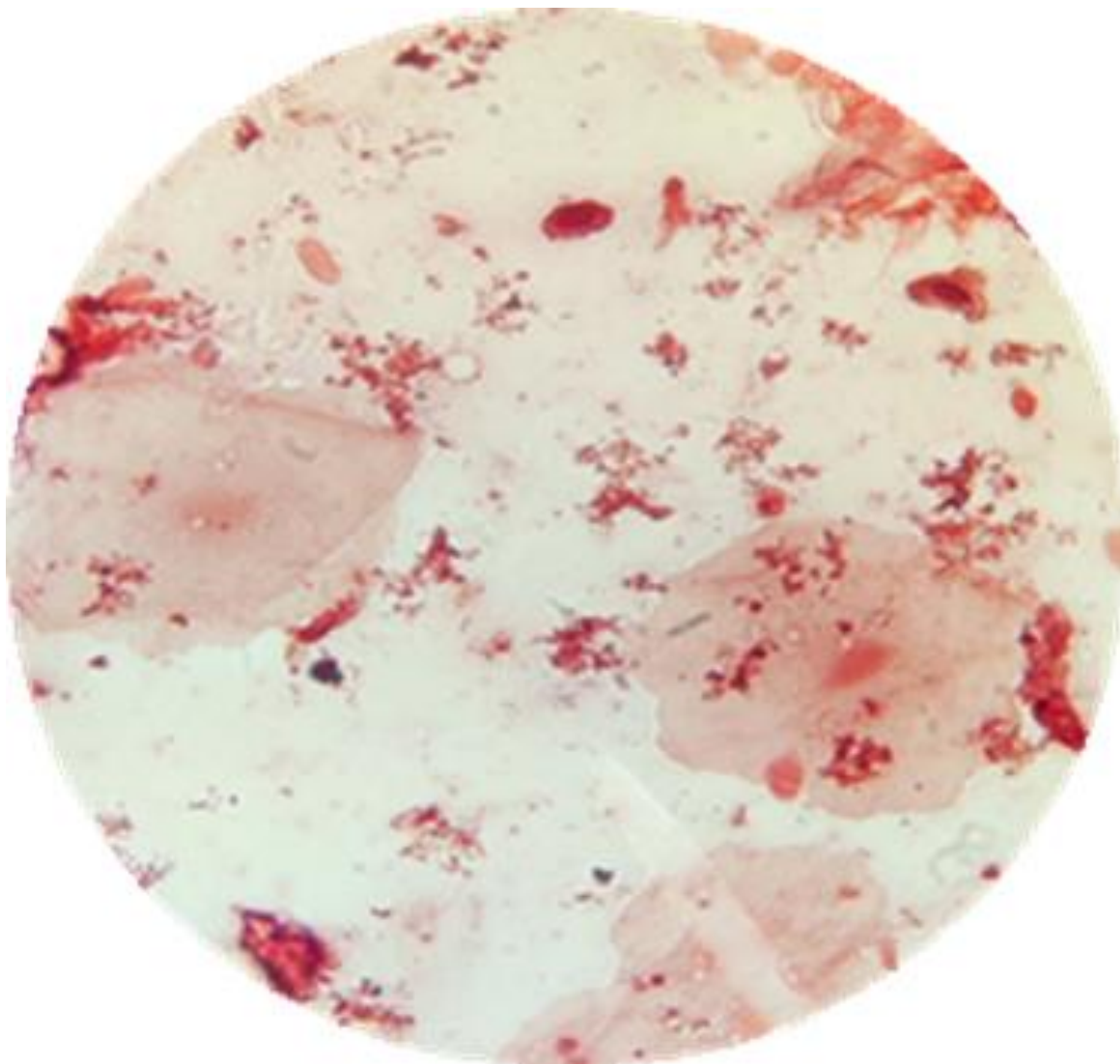


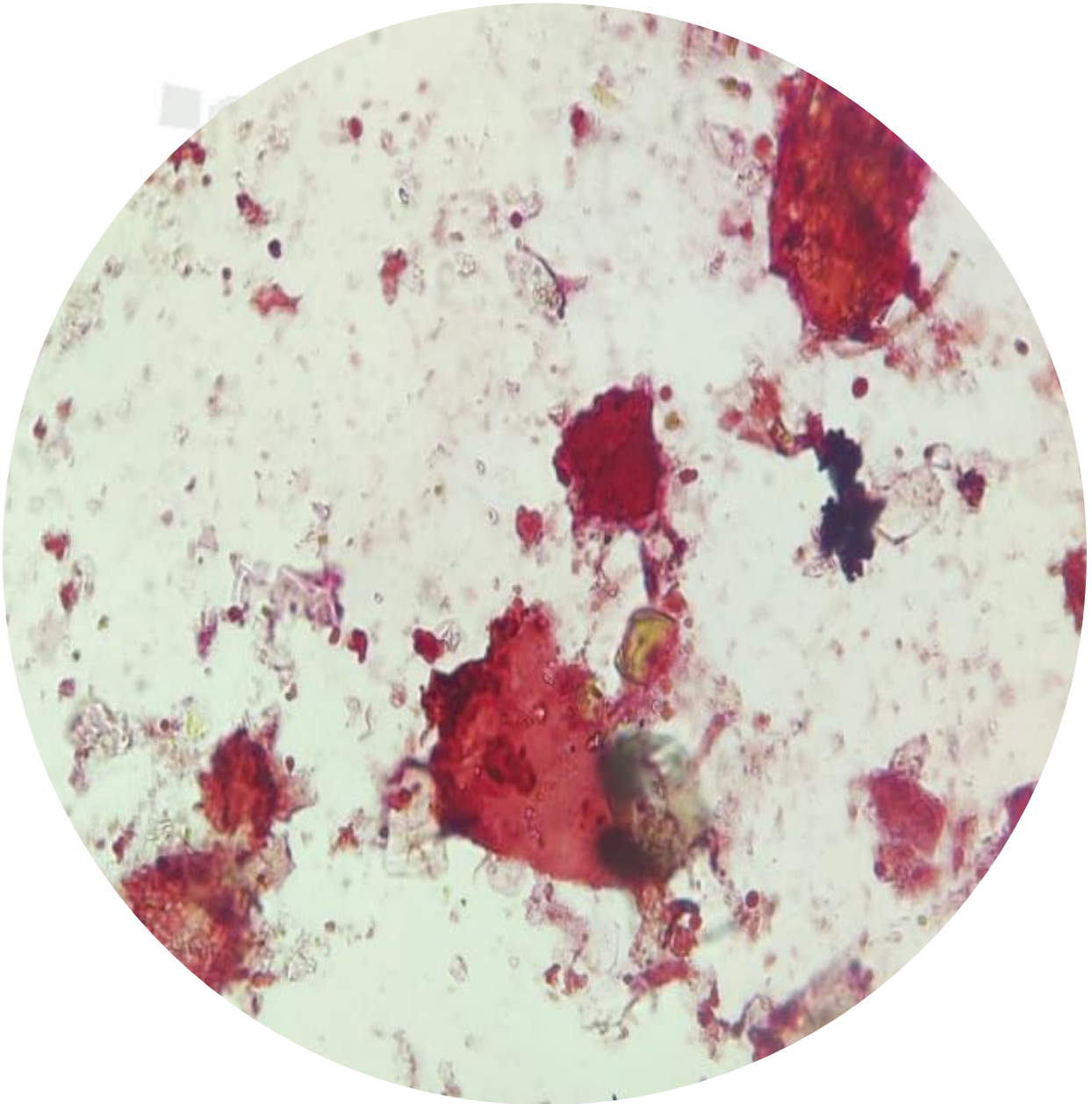


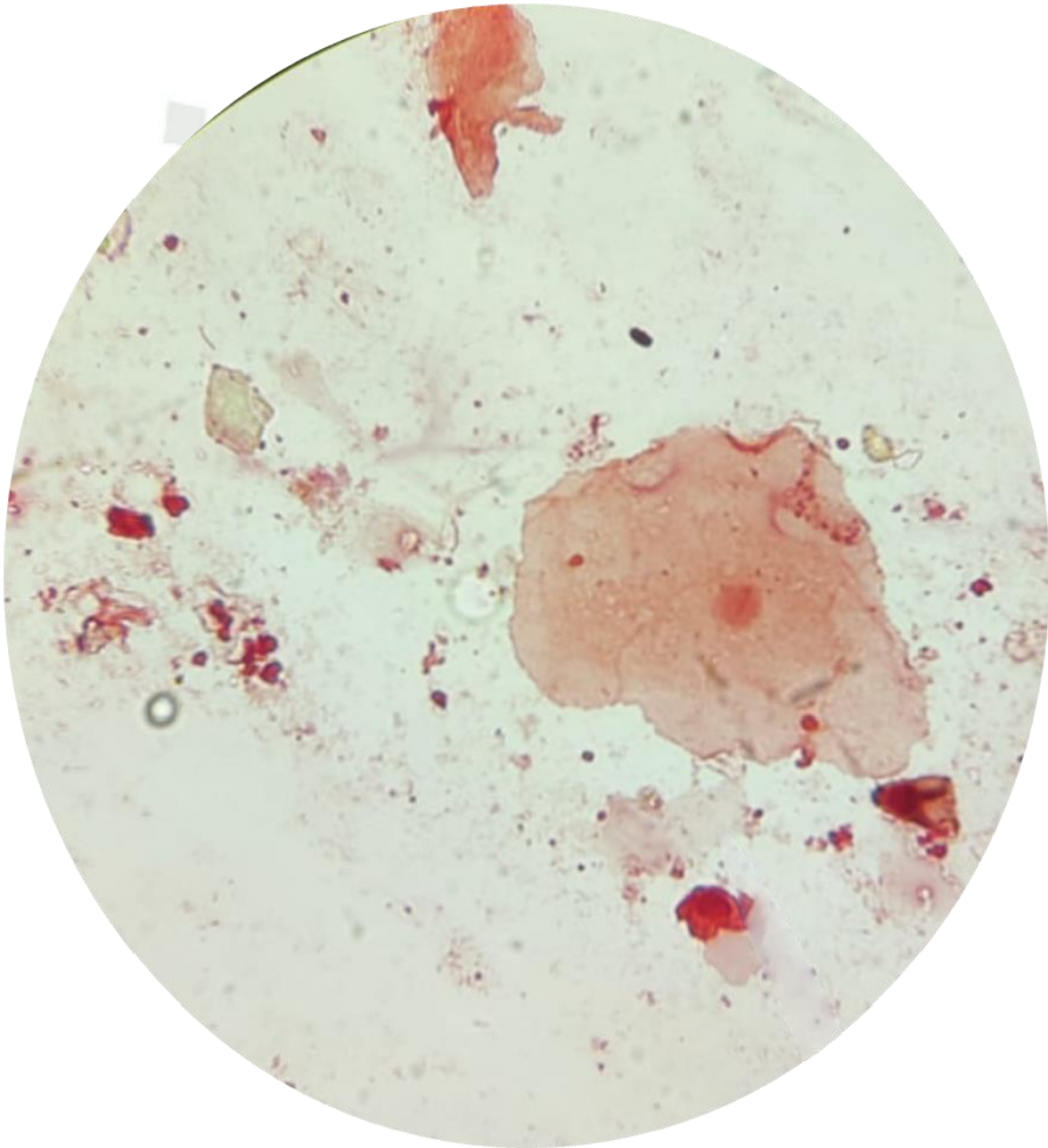
P7

Psittacara erythrogenys

HEMBRA



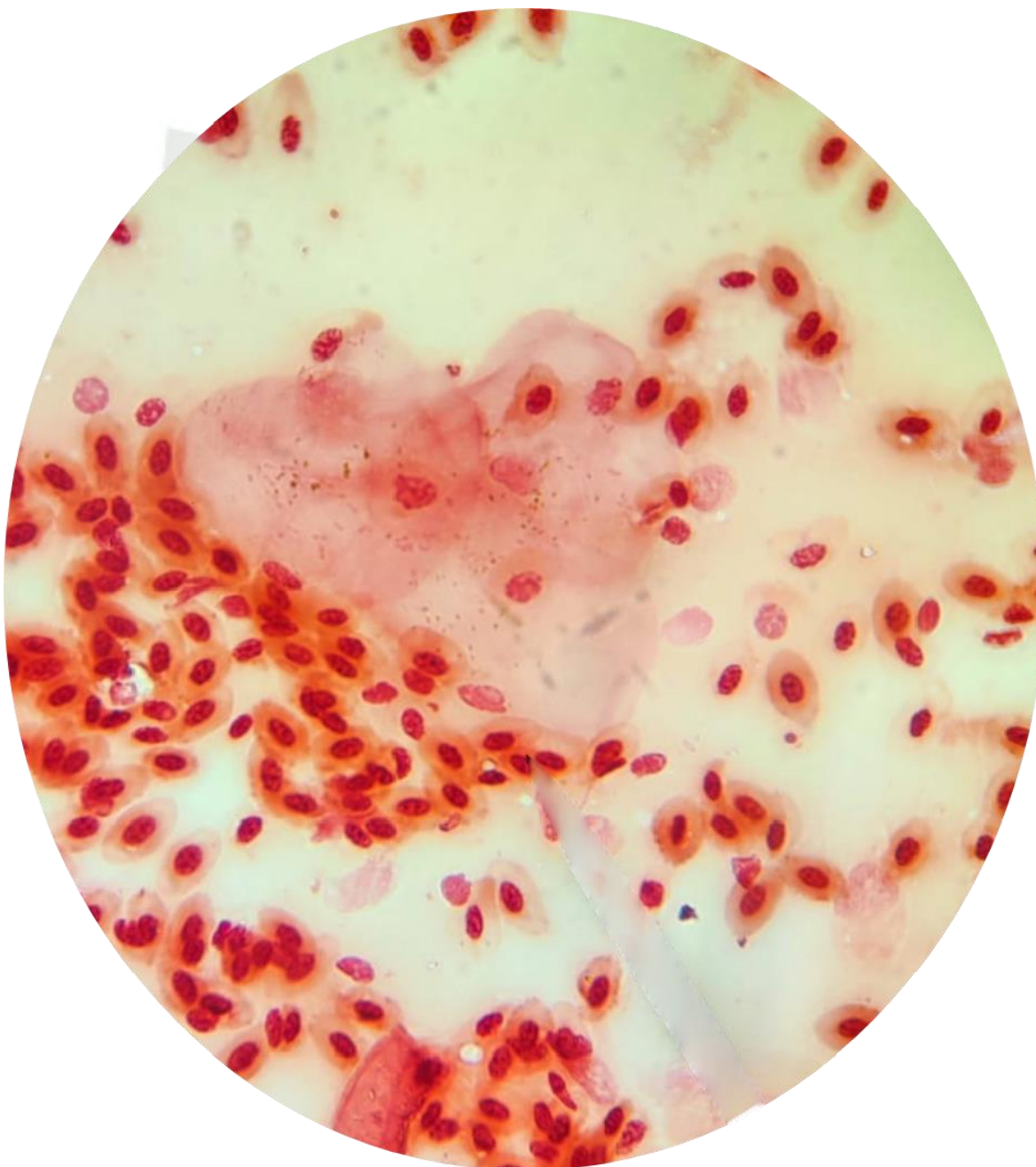


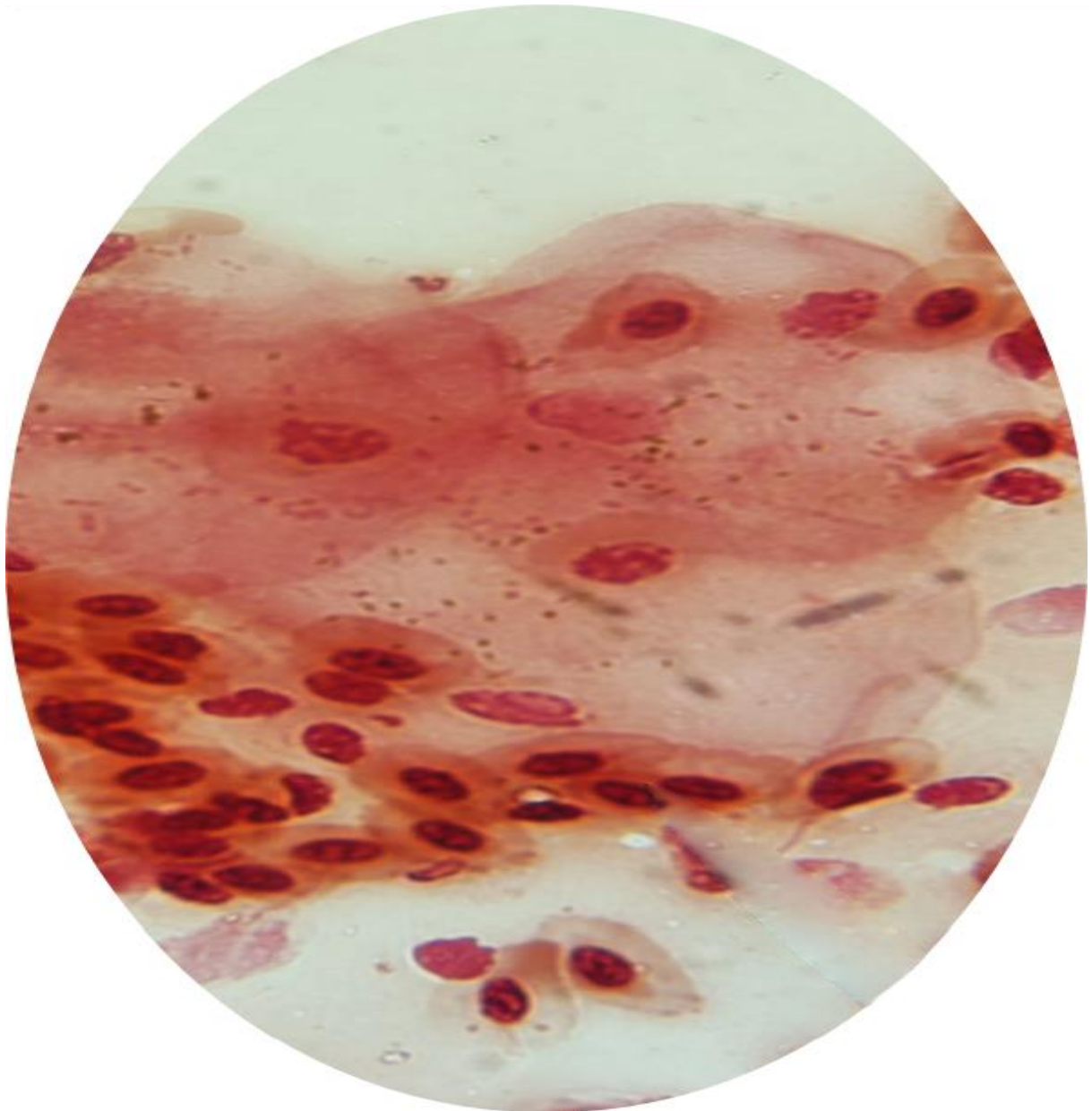


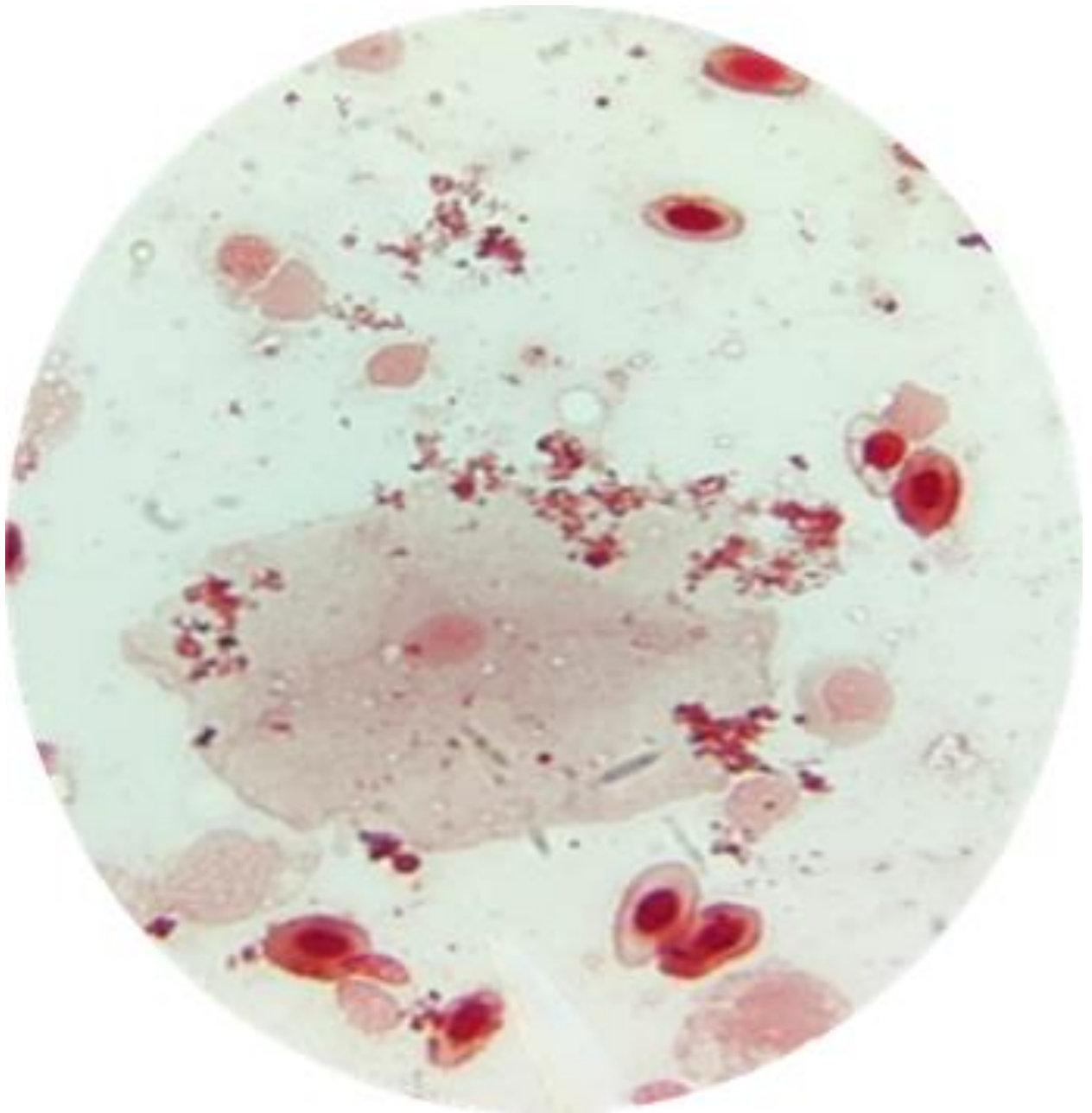
P8

Psittacara wagleri

HEMBRA



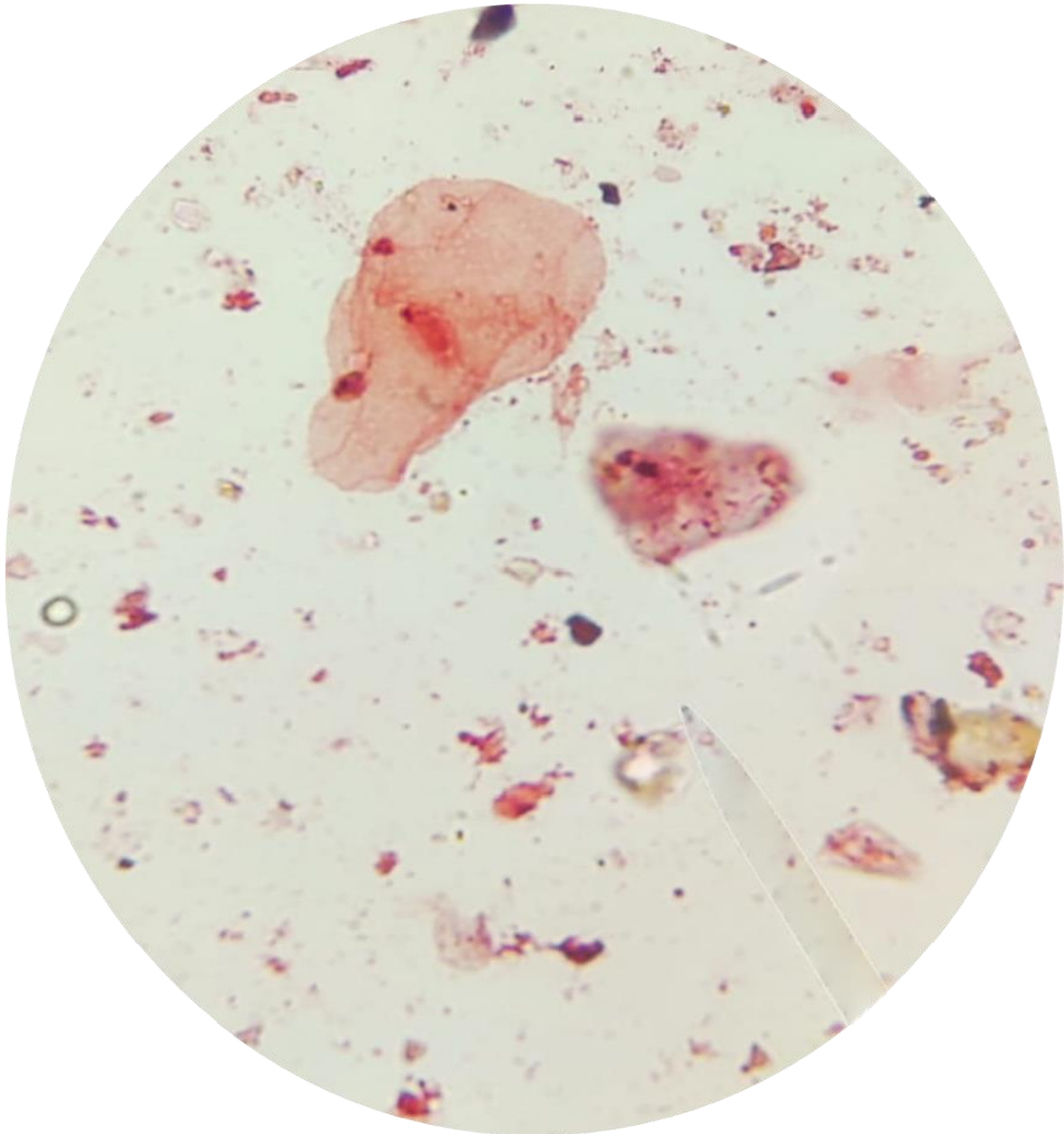


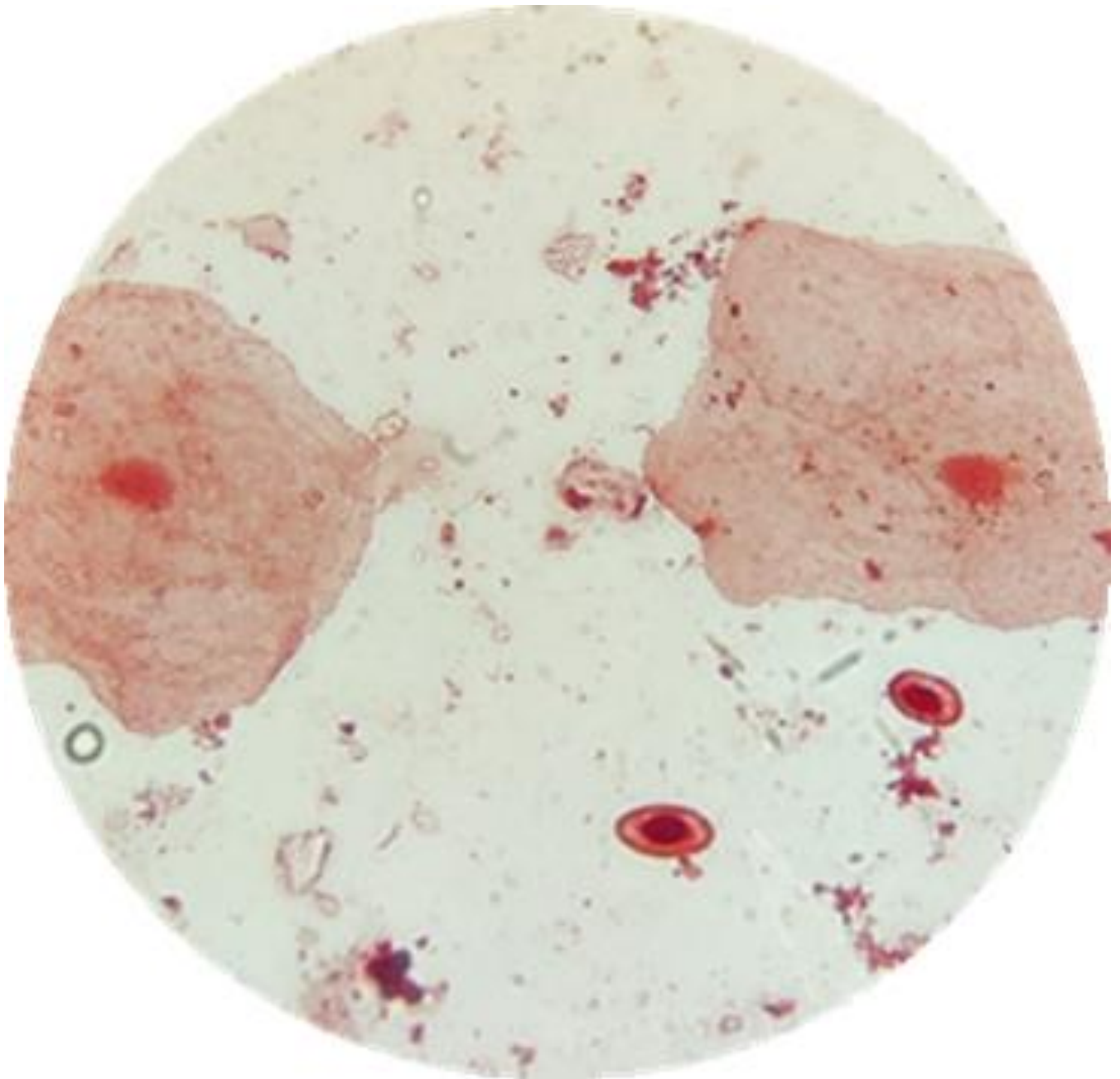


P9

Psittacara erythrogenys

HEMBRA

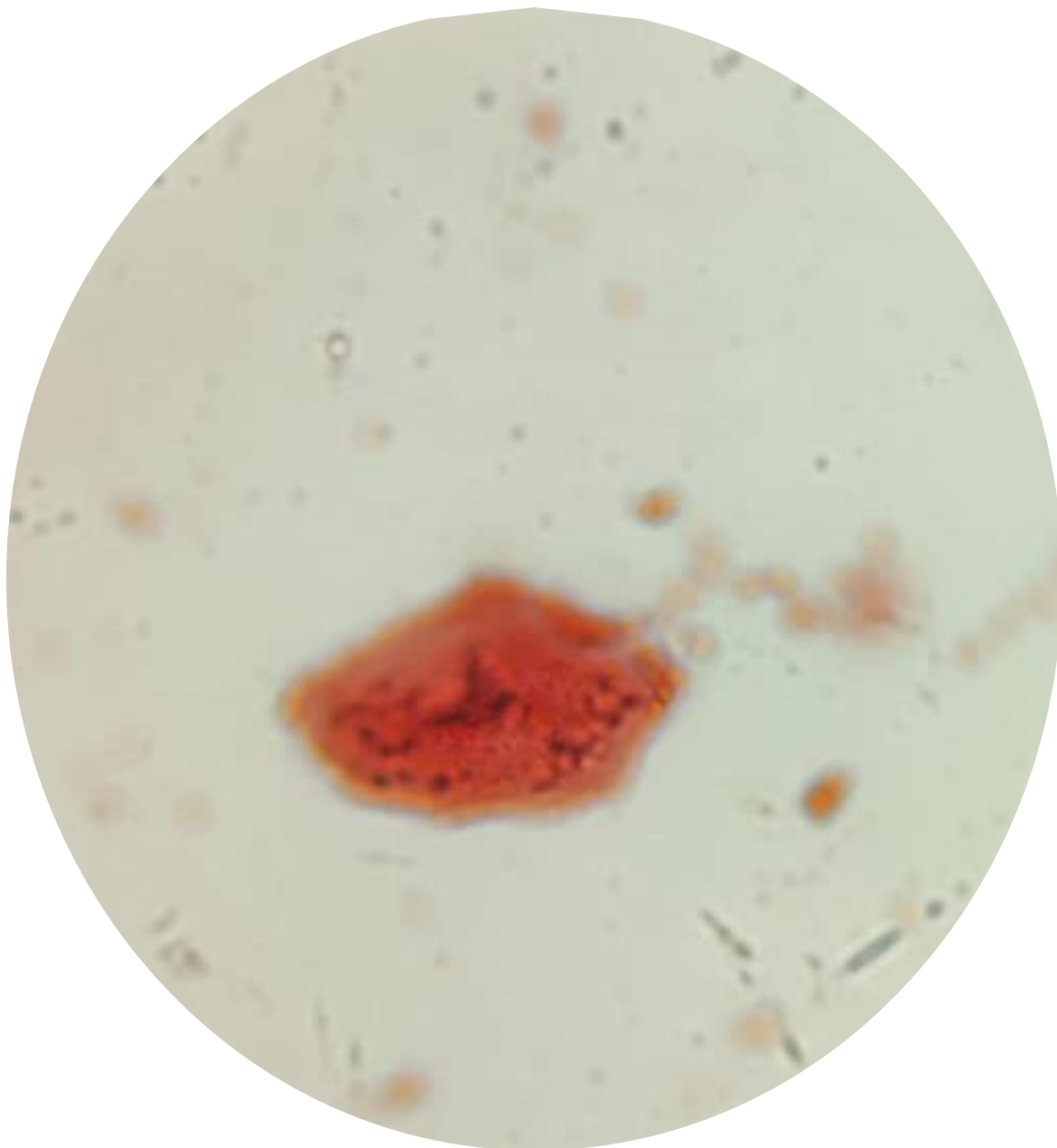


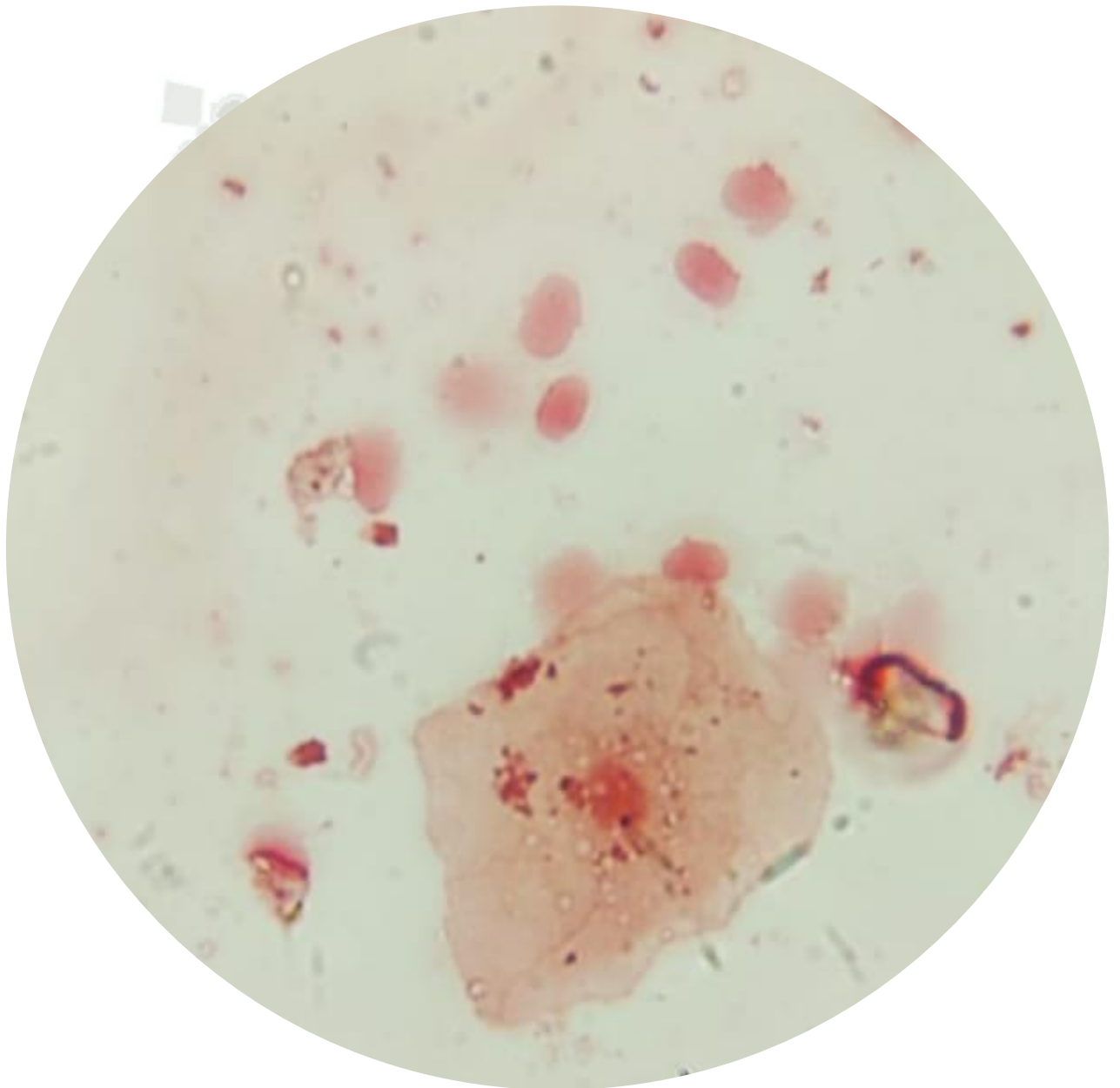


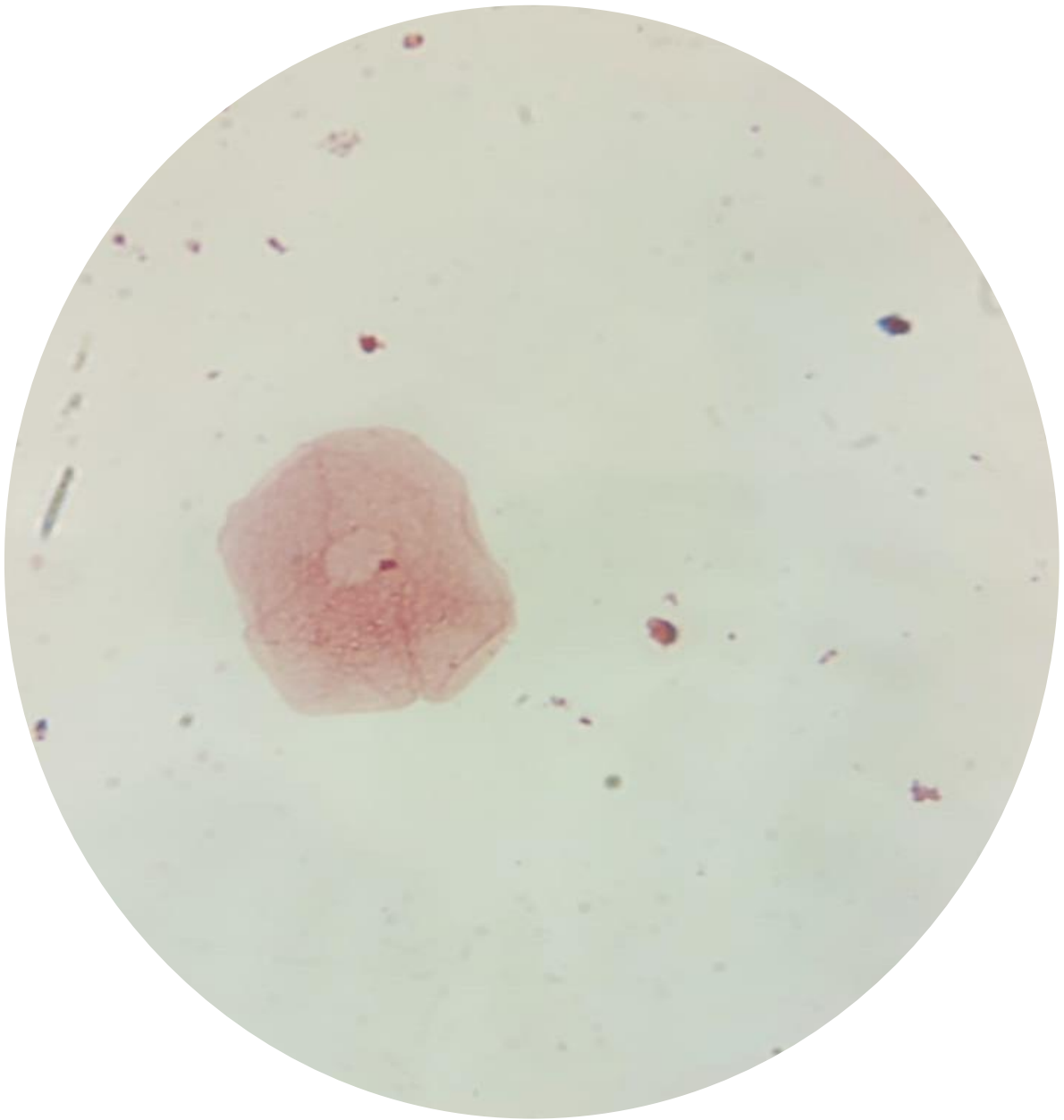
P10

Psittacara erythrogenys

HEMBRA



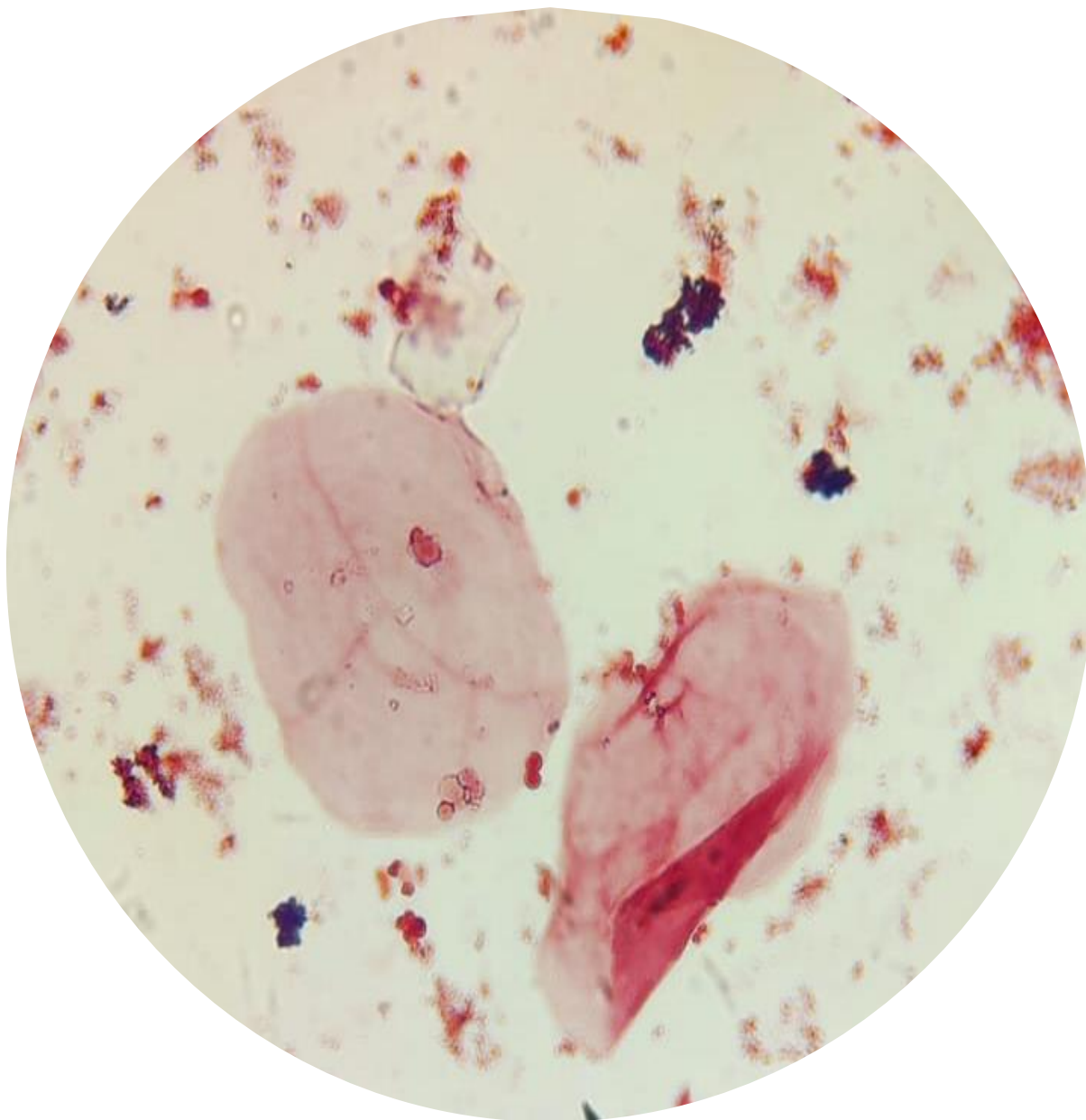


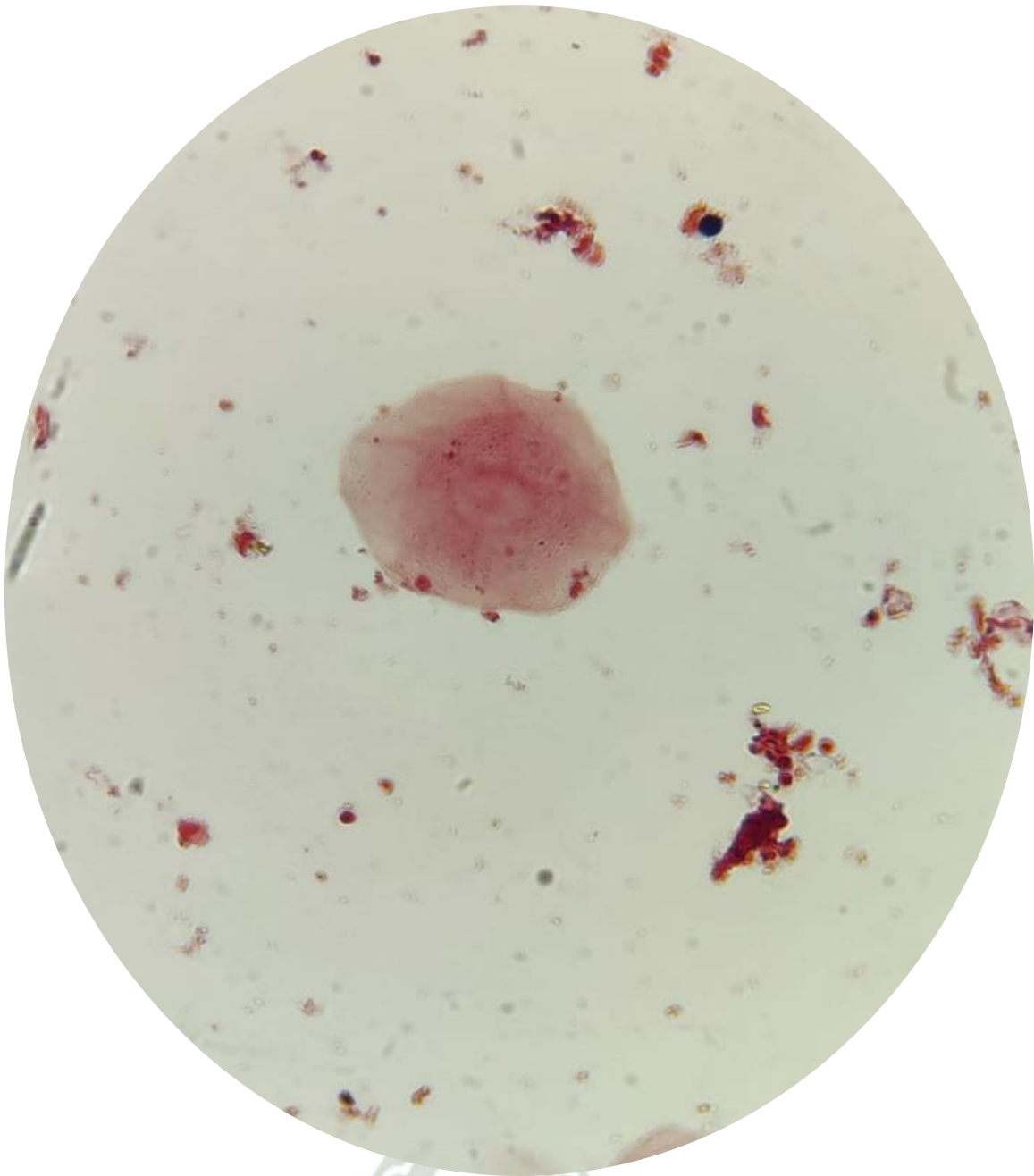


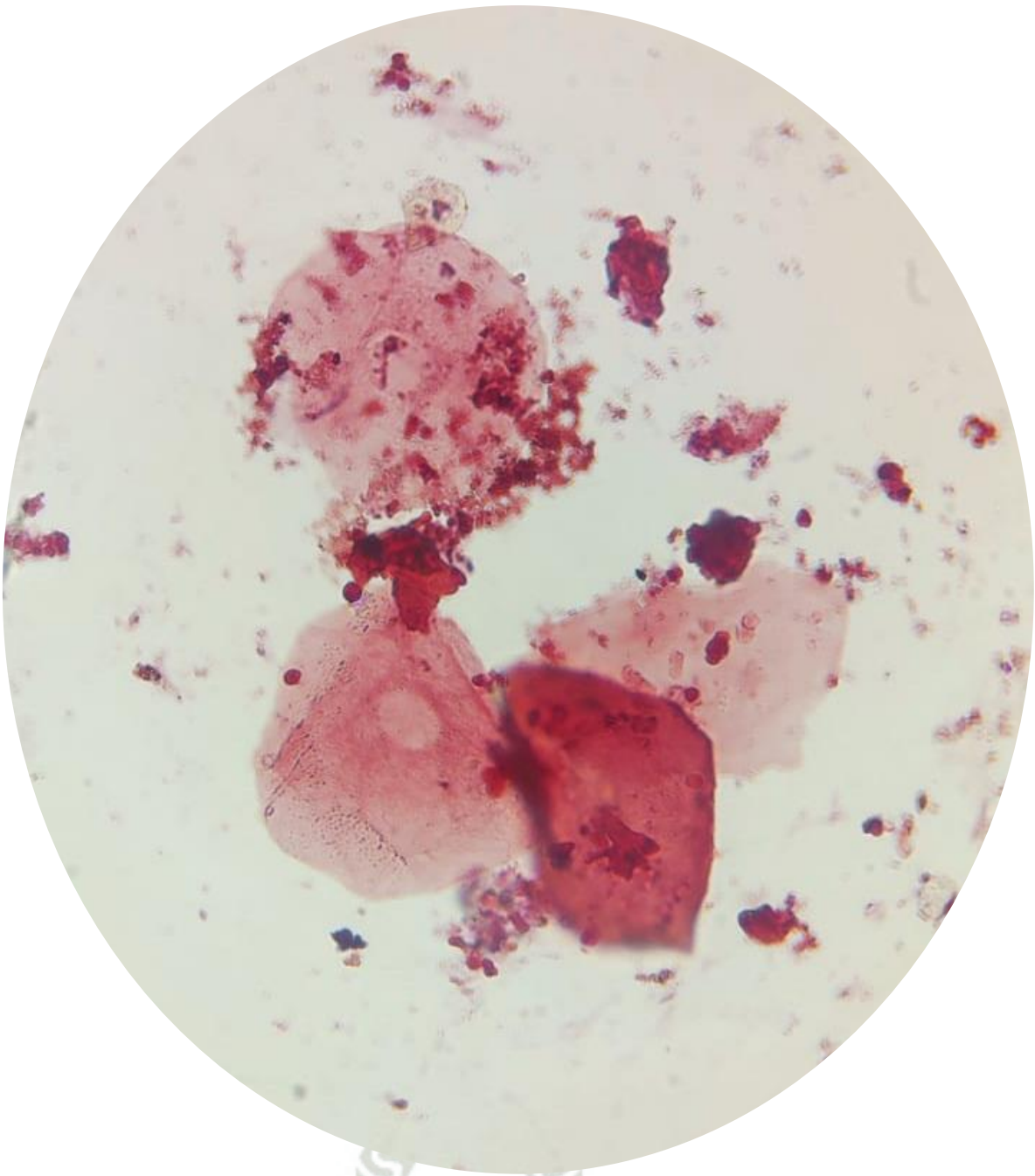
P11

Psittacara wagleri

MACHO







P12

Psittacara Erythrogenys

MACHO

