

# ANÁLISIS CITOGENÉTICO DE *PANTHERA ONCA* (FELIDAE: PANTHERINAE) DE LA PROVINCIA DE MISIONES, ARGENTINA

---

Mario A. Ledesma<sup>1</sup>, Cristian O. Ledesma<sup>1</sup>, Karina Schiaffino<sup>2</sup>,  
Miguel A. Rinas<sup>3</sup> y Ricardo J. Gunski<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Genética. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552, 6° piso, (3300) Posadas, Misiones, Argentina. <mledesma@fceqyn.unam.edu.ar> <sup>2</sup> Centro de Investigaciones Ecológicas Subtropicales (CIES). Administración de Parques Nacionales. Avenida Victoria Aguirre 66, (3370) Pto. Iguazú, Misiones, Argentina. <sup>3</sup> Dirección de Flora y Fauna. Ministerio de Ecología y Recursos Naturales Renovables, San Lorenzo 1538, (3300) Posadas, Misiones, Argentina. <sup>4</sup> Cs. Biológicas, Campus de Porto Nacional, Univ. Federal do Tocantins, CEP 77500-000, Pto. Nacional, Tocantins, Brasil <rgunski@uft.edu.br>

**RESUMEN.** El objetivo del presente trabajo fue establecer el número cromosómico y los patrones de bandeos G y NOR de ejemplares de yaguararé de la Provincia de Misiones mantenidos en cautiverio. El análisis citogenético mostró que el cariotipo de estos ejemplares comprende  $2n=38$  cromosomas distribuidos en 6 grupos de autosomas (A, B, C, D, E, F) y el par sexual, mostrando una gran semejanza con las demás especies de esta familia previamente analizadas, tanto por el patrón de bandas G, como por la localización de regiones organizadoras del nucléolo (NOR).

**ABSTRACT. Cytogenetic analysis of *Panthera onca* (Felidae: Pantherinae) from Misiones province, Argentina.** The objective of the present work was to establish the chromosomal number and the patterns of G and NOR of captive jaguar specimens from Misiones province. Cytogenetic analysis showed that diploid chromosome number of these specimens was 38, distributed in 6 autosomal groups (A, B, C, D, and, F) and the sex pair, showing a great similarity with the other species of this group previously analyzed in this family, when patterns of G bands as well as the location of the NOR were compared.

**Palabras clave:** bandas NOR, bandas G, yaguararé, jaguar.

**Key words:** NOR bands, G bands, yaguararé, jaguar.

## INTRODUCCIÓN

El alto impacto ambiental provocado por la acción del hombre durante las últimas décadas tuvo como consecuencia una gran disminución de la extensión de la Selva Paranaense, dejando como resultado la pérdida de numerosas especies y para muchas otras, serio riesgo de extinción, entre ellas el jaguar o yaguararé (*Panthera onca*).

La antigua distribución del yaguararé comprendía desde el sur de los Estados Unidos hasta la región central de la Argentina. La presión de caza y la destrucción de su hábitat han causado una considerable disminución de esta especie, desapareciendo de Estados Unidos, El Salvador, Uruguay y toda la costa del Brasil, en tanto que en Argentina, México y Guatemala, son escasos los registros. La mayor población conocida en la actualidad, se

concentra en la región amazónica, en Brasil (Seymour, 1989).

Wozencraft (1995) realizó una revisión bibliográfica para la distinción taxonómica de la familia Felidae, la cual está representada en América del Sur por las subfamilias Pantherinae, que incluye una sola especie, *Panthera onca*, y Felinae, con cuatro géneros y ocho especies, aunque en la actualidad la mayor parte de los autores aceptan la existencia de un solo género (*Felis*) en Felinae de Sudamérica, ya que los cuatro géneros considerados por Wozencraft (1995) son reducidos a categoría de subgénero (Nowak, 2000).

Varios integrantes de la familia Felidae han sido estudiados citogenéticamente, a través de técnicas de coloración convencional y diferencial, lo que ha permitido observar la alta constancia en su patrón cariotípico (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray, 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982; Dutrillaux y Couturier, 1983). Dieciséis de los diecinueve pares cromosómicos encontrados en *Felis domesticus* están presentes en todas las otras especies de felinos (Nie et al., 2002). De las especies estudiadas hasta la actualidad la mayoría presenta un número diploide que varía entre  $2n=34$  y  $2n=38$  y su número fundamental entre  $NF=70$  y  $NF=74$ , mientras que la estructura de los cromosomas sexuales es uniforme (Wurster y Benirshke, 1968). Estudios realizados por Roubin et al. (1973) en *Panthera leo* y *P. tigris*, mostraron que ambos cariotipos son semejantes y se diferencian de *Felis domesticus*, considerado el ancestral del grupo, por una inversión pericéntrica en el cromosoma 4 del grupo B, a partir de la cual este cromosoma de *Panthera* pasó a formar parte del grupo A.

Hasta la actualidad el único registro bibliográfico que existe de un estudio citogenético de *Panthera onca* pertenece a Hsu et al. (1963), donde se describen el número diploide y la morfología cromosómica.

El presente trabajo tiene como objetivo establecer el número cromosómico y determinar los patrones de bandeos G y NOR en ejemplares de *P. onca*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron extracciones de sangre de 2 machos y 3 hembras de *P. onca* que fueron capturados en las instalaciones de la propiedad de la familia Waidelich en la localidad de Montecarlo, los cuales se encuentran en la actualidad en cautiverio. Las muestras de sangre de un macho fueron tomadas en el "Centro de Rehabilitación y Cría de Animales Silvestres" parque ecológico "El Puma" Candelaria, Misiones. El animal fue capturado por personal del CIES y del Ministerio de Ecología, en cercanías a la Reserva Provincial "Urugua-í".

Para la obtención de cromosomas mitóticos se llevaron a cabo cultivos de linfocitos de sangre periférica de acuerdo a la técnica de Moorhead et al. (1960) con modificaciones. Debido a que la sangre de los felinos es relativamente difícil de cultivar, es imprescindible que previamente sea defibrinada; así, las muestras de sangre se transfirieron a frascos que contenían pequeñas cuentas de cristal, agitándolas suavemente durante 10 minutos. Posteriormente se realizaron los cultivos en medio RPMI 1640 (Gibco) con HEPES, conteniendo 20% de suero fetal bovino (Gibco) y 0,1 ml de fitohemaglutinina de tipo M. Se incubó durante 72 hs a 37°C y en la última hora se adicionaron 2 gotas de colchicina 0,05%.

La suspensión celular fue goteada sobre portaobjetos. Se colorearon con Giemsa en tampón fosfato 0,01 M pH 6,8. Para determinar el número y morfología cromosómica se analizaron 35 metafases por ejemplar.

La técnica de bandeos G se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Seabright (1971) y las bandas NOR se realizaron de acuerdo al protocolo propuesto por Howell y Black (1980), con modificaciones.

Para realizar la biometría cromosómica, se escogieron y fotografiaron 10 metafases de óptima coloración y morfología. Los cromosomas fueron medidos mediante la utilización de una regla con apreciación máxima de 1 mm. El cálculo del índice centromérico (IC) se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$IC = \frac{\overline{p}_i}{\overline{p}_i + \overline{q}_i}$$

Donde:

$\overline{p}_i$  = longitud media del brazo corto del *i*-ésimo cromosoma

$\overline{q}_i$  = longitud media del brazo largo del *i*-ésimo cromosoma

Los cromosomas fueron ordenados de acuerdo a lo establecido en la Conferencia de San Juan, en 6 grupos (A, B, C, D, E) y los cromosomas sexuales (Jones, 1965; Tabla 1).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ejemplares estudiados presentaron  $2n=38$  cromosomas y  $NF=72$ . (Figs. 1a, 1b). Las características cromosómicas morfológicas observadas fueron:

**Grupo A.** Compuesto por cuatro pares de cromosomas submetacéntricos grandes, donde el par A1 es el mayor de todo el complemento. Este cromosoma, así como los pares A2 y A3 son constantes en toda la familia. El par cromosómico A4 que se observa en el género *Panthera*, permite diferenciarlo de los del gé-

nero *Felis*, donde estos cromosomas se incluyen en el grupo B (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray, 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

**Grupo B.** Formado por 3 pares de cromosomas acrocéntricos grandes, siendo el par B1 de fácil identificación ya que es el segundo en tamaño de todo el complemento. En *Puma concolor* B1 es el único par incluido en el grupo, mientras que en *Felis domesticus* el grupo esta formado por 4 pares (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

**Grupo C.** Formado por dos pares de cromosomas metacéntricos grandes, el cromosoma C1 es fácil de identificar y está presente en toda la familia (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

**Grupo D.** Cuatro pares de cromosomas submetacéntricos pequeños. Comparándolo con otras especies, este grupo es el que más dificultades presenta, ya que en el género *Panthera* el par D4 no se corresponde con el de otras especies, y no es claramente distinguible (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

**Grupo E.** Formado por 3 pares de cromosomas metacéntricos pequeños, donde el par E1 presenta una constricción secundaria muy evidente en el brazo corto, característica de toda la familia (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray, 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

**Grupo F.** Formado por dos pares de cromosomas telocéntricos, aunque en algunas especies como *Felis wiedi* y *F. pardalis* están ausentes (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

El cromosoma X de *P. onca* es submetacéntrico de tamaño medio, mientras que en *F. domesticus* aparece como metacéntrico. El cromosoma Y es submetacéntrico pequeño, siendo uno de los cromosomas de menor tamaño del complemento; al igual que en todos los otros miembros del género *Panthera*, aparece como metacéntrico, aunque en la mayoría de las especies de felinos este cromosoma presenta variación en la longitud del brazo corto (Hsu et al., 1963; Wurster-Hill y Gray, 1973; Roubin et al., 1973; Wurster-Hill y Centerwall, 1982).

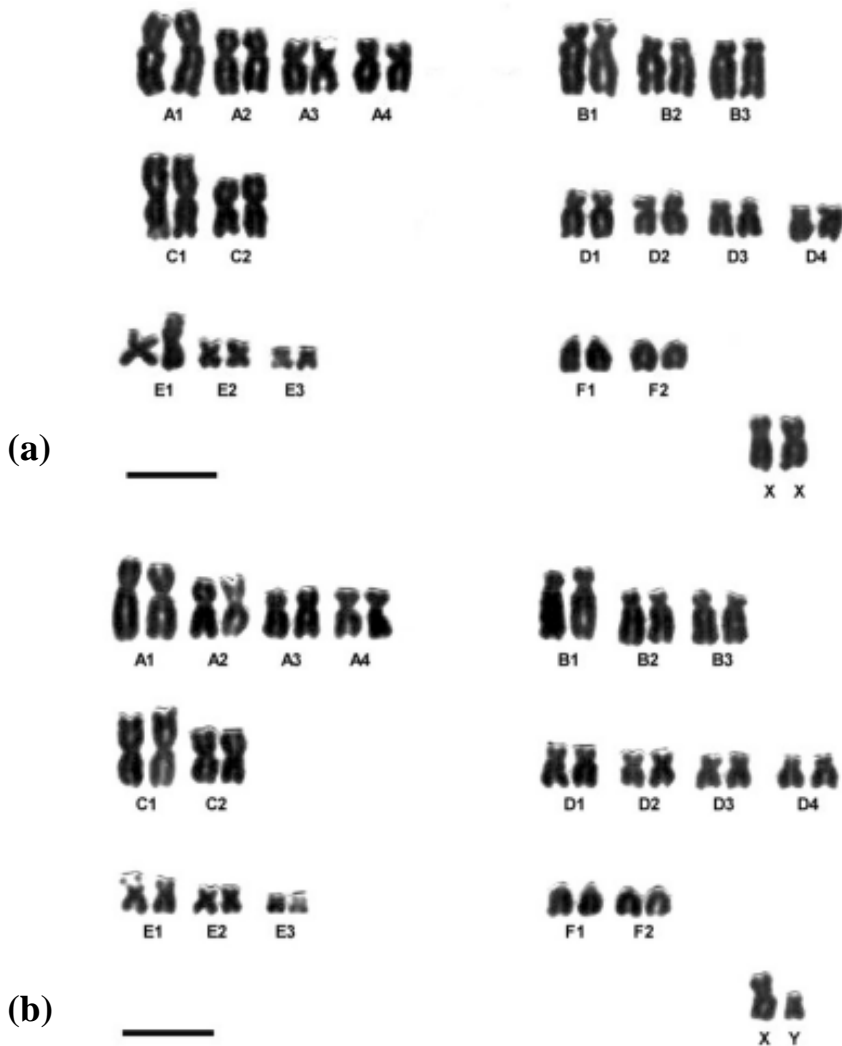
La coloración por impregnación argéntica

Tabla 1

Análisis biométrico de los cromosomas de *Panthera onca*. IC= Índice Centromérico, m= metacéntrico, sm= submetacéntrico, a= acrocéntrico, T= telocéntrico.

*Biometrical analysis of the chromosomes of Panthera onca.* IC= Centromeric Index, m= metacentric, sm= submetacentric, a= acrocentric, T= telocentric.

Grupos	Crom.	IC	Clasif.
A	C 1	0,351 ± 0,0075	sm
	C 2	0,368 ± 0,0077	sm
	C 3	0,357 ± 0,0079	sm
	C 4	0,334 ± 0,0098	sm
B	C 1	0,224 ± 0,051	a
	C 2	0,211 ± 0,0136	a
	C 3	0,214 ± 0,013	a
C	C 1	0,494 ± 0,004	m
	C 2	0,477 ± 0,004	m
D	C 1	0,312 ± 0,002	sm
	C 2	0,306 ± 0,015	sm
	C 3	0,284 ± 0,017	sm
	C 4	0,319 ± 0,023	sm
E	C 1	0,432 ± 0,018	m
	C 2	0,413 ± 0,022	m
	C 3	0,467 ± 0,010	m
F	C1	0	T
	C2	0	T
	C Y	0,383 ± 0,012	sm
	C X	0,368 ± 0,051	m

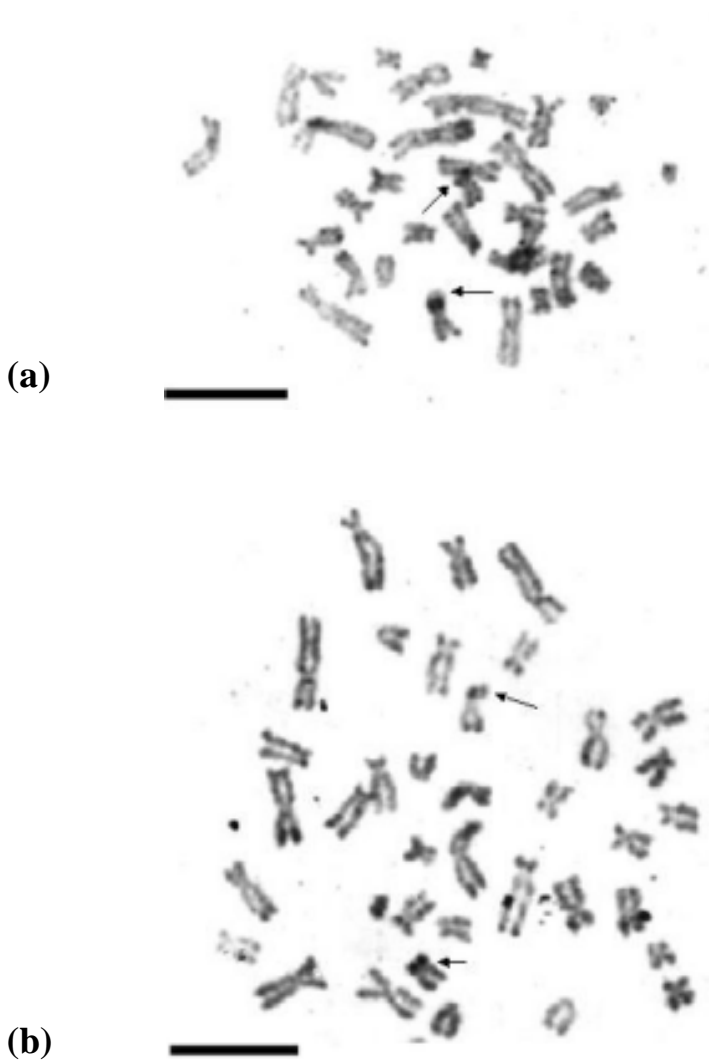


**Fig. 1.** Cariotipos de *Panthera onca*  $2n=38$ , a) hembra b) macho. La barra indica  $10\mu$ .  
*Karyotype of Panthera onca*  $2n=38$ , a) female; b) male. Bar represents  $10\mu$ .

reveló que las regiones organizadoras de nucléolo se encuentran asociadas a la constricción secundaria del par E1 (Fig. 2). Estudios previos de bandeo NOR en otras especies de felinos demostraron que esta marcación se mantiene constante, existiendo en algunos casos una segunda NOR localizada en el brazo corto del cromosoma 3 del grupo E en *F. domesticus* (Pearson et al., 1979).

El patrón de bandeo G para *Felis domesticus* ha sido establecido como estándar para la fa-

milia Felidae (Yang et al., 2000). De acuerdo a lo publicado por Wurster-Hill y Centerwall (1982) para *Panthera tigris*, *P. leo*, *P. pardus* y *P. uncia*, no existen diferencias en número y tamaño de sus cromosomas. Los resultados obtenidos en este trabajo, por otro lado, indican que la inversión pericéntrica que se observa en el par A4 ocurre también en *P. onca* (Fig. 3). Esta inversión, entonces, diferenciaría los cariotipos de los géneros *Panthera* y *Felis*.



**Fig. 2.** a-b) Cariotipos tratados con impregnación argéntica. Las flechas indican los cromosomas del par E1 donde se encuentran localizadas las regiones organizadoras nucleolares. La barra indica 10 $\mu$ .

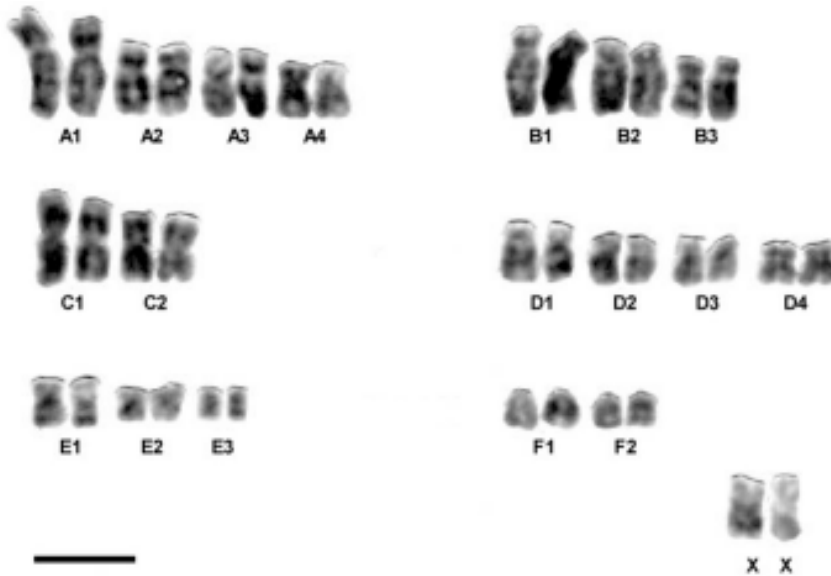
a-b) Silver stained karyotypes. The arrows indicate the chromosomes of pair E1, where the nucleolar organising regions are located. Bar represents 10 $\mu$ .

Siendo el yaguareté uno de los felinos menos conocido desde el punto de vista citogenético, los resultados del presente trabajo, a partir de la determinación del patrón de bandas G, permitirán en el futuro realizar estudios comparativos con ejemplares de otras poblaciones del país, como las existentes en las provincias de Chaco y Salta. Se espera que un conocimiento detallado de todos los aspectos biológicos de *P. onca*

contribuyan a implementar las medidas de protección del mayor felino de las Américas.

#### AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Personal del C.I.E.S. y del Ministerio de Ecología y Recursos Naturales Renovables, por el valioso aporte del material utilizado para este trabajo. Al Dr. Claudio J. Bidau por la lectura crítica y los comentarios brindados que han mejorado sustancialmente el manuscrito.



**Fig. 3.** Bandas G del cariotipo de *Panthera onca*. La barra indica 10 $\mu$ .  
*G-banded karyotype of Panthera onca. Bar represents 10 $\mu$ .*

## LITERATURA CITADA

- DUTRILLAUX, B. y J. COUTURIER. 1983. The ancestral karyotype of carnivora: comparison with that of platyrrhine monkeys. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 35:200-208.
- HOWELL, W.M. y D.A. BLACK. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer region with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36:153-176.
- HSU, T.C., H.H. REARDEN y G.G. LUQUETTE. 1963. Further karyological studies on Felidae. *Chromosoma*, 36:1014-1015.
- JONES, T.C. 1965. San Juan conference on karyotypes of Felidae: special report. *Mammalian Chromosomal Newsletters*, 15:121-122.
- MOORHEAD, R.S., P.C. HOWELL, W.J. MELLMAN, D.M. BATTEPS y D.A. HUNGERFORD. 1960. Chromosomes preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cellular Research*, 2:613-616.
- NIE, W., J. WANG, P.C.M.O'BRIEN, B. FU, T. YING, M.A. FERGUSON-SMITH y F. YANG. 2002. The genome phylogeny of domestic cat, red panda and five mustelid species revealed by comparative chromosome painting and G-banding. *Chromosome Research*, 10:209-222.
- NOWAK, R.M. 2000. *Walker's Mammals of the World*. 6<sup>th</sup> Edit. Vol.I. Johns Hopkins University Press, Baltimore & London. LXX+836 pp.
- PEARSON, M.D., M. SEABRIGHT y N. MACLEAN. 1979. Silver staining of nucleolar organizer regions in the domestic cat, *Felis catus*. *Cytogenetics and Cellular Genetics*, 24:245-247.
- ROUBIN, M., J. DE GROUCHY y M. KLEIN. 1973. Les félides: évolution chromosomique. *Annals on Genétique*, 16(4):433-245.
- SEABRIGHT, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, 2:971-972.
- SEYMOUR, K.L. 1989. *Panthera onca*. *Mammalian Species*. The American Society of Mammalogists, 340:1-9.
- WOZENCRAFT, W.C 1995, en NOWELL, K y P. JAKSON (Eds.). 1996. *Wild Cats: Status, Conservation and Action plan*. IUCN/SSC Cat Specialist Group. Gland, Suiza, 382 pp.
- WURSTER, D.H. y K. BENIRSCHKE. 1968. Comparative cytogenetics studies in the order Carnivora. *Chromosoma*, 24:336-382.
- WURSTER-HILL, D.H. y C.W. GRAY. 1973. Giemsa banding patterns in the chromosomes of twelve species of cats (Felidae). *Cytogenetics and Cell Genetics*, 12:377-397.
- WURSTER-HILL, D.H. y W.R. CENTERWALL. 1982. The interrelationships of chromosome Banding patterns in canids, mustelids, hyena, and felids. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 34:178-182.
- YANG, F., A.S. GRAPHODATSKY, P.C. O'BRIEN, A. COLABELLA, N. SOLANKY, M. SQUIRE, D.R. SARGAN y M.A. FERGUSON-SMITH. 2000. Reciprocal chromosome painting illuminates the history of genome evolution of the domestic cat, dog and human. *Chromosome Research*, 8:393:404,