



Buenos Aires, 14 de octubre de 2015

Sres. Conservation Land Trust

Cc Gabriel Terny

Dirección de Fauna Silvestre

Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación

Me dirijo a Uds. a fin de enviarles el informe sobre los análisis genéticos de parentesco solicitados en la especie *Panthera onca* (yaguararé) dentro del marco del programa del Centro Experimental de cría de yaguararés en la Reserva Iberá.

El individuo sobre el cual fueron estimados los parentescos es la hembra **Tobuna**, ya trasladada al Centro de Cría, y el objetivo principal de los análisis es el de determinar parentesco de dicha hembra con los posibles machos: **Tango** –PAON 10, perteneciente al Zoológico de Buenos Aires; y **Nahuel** – Código de Identificación Nacional PO- 977200008186252, procedente del Zoológico de Bualcó. Ambos fueron identificados previamente como posibles parejas para el inicio del programa. Como objetivo secundario hemos realizado un estudio para comprobar si todos los individuos mencionados pertenecen al mismo linaje genético.

## 1- PARENTESCO

*Metodología.* Las frecuencias alélicas de 10 loci de microsatélites desarrollados para gato doméstico (Menotti-Raymond et al 1999) y puestos a punto para yaguararé fueron estimadas en 26 individuos que se detallan en la Tabla 1. En la misma Tabla se detalla los colectores de cada una de las muestras. Se realizó la extracción de ADN de cada una de las muestras, consistentes en 21 sangres, 2 tejidos y 3 fecas (previamente determinadas como pertenecientes a la especie *P. onca*), y se amplificaron utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) los 10 loci de microsatélites con cebadores fluorescentes.



Los genotipos fueron obtenidos utilizando un secuenciador automático y se detallan en la Tabla 2, sólo para los individuos objeto de este estudio. Para las fecas se utilizó el método de tubos múltiples (Taberlet et al 1996) con el objetivo de corregir errores de genotipificación producto de la baja calidad y cantidad de ADN.

Para el cálculo de los coeficientes de parentesco se utilizó el programa ML-RELATE (Kalinowski et al 2006). Dicho programa estima el parentesco utilizando "máximum likelihood", el cual es el estimador más preciso (Milligan 2003). Por otra parte, el programa discrimina entre cuatro relaciones posibles de parentesco: no relacionado (U), medio hermanos (HS), hermanos completos (FS) y parental-descendiente (PO).

*Resultados.* En la Tabla 3 se muestran los coeficientes de parentesco obtenidos para cada par de individuos objeto de este estudio. A partir de estos coeficientes, se estima una relación entre TOBUNA y TANGO de hermano completo (coeficiente 0.75), y con NAHUEL se estima sin relación (coeficiente 0). TANIA tiene una relación de padre-descendiente con TANGO (coeficiente 0.5), y sin relación con Nahuel (coeficiente 0).

***CONCLUSIÓN: La hembra TOBUNA aparece no relacionada con el macho NAHUEL (coeficiente de parentesco 0), mientras que posee un alto coeficiente de parentesco (0.75) con el macho TANGO. La recomendación entonces es que se utilice a NAHUEL como pareja de TOBUNA para la cría experimental.***

***Por otra parte, cabe destacar que la hija de TOBUNA, TANIA también presenta un coeficiente de parentesco de 0 (no relacionada), con NAHUEL.***



Tabla 1: Individuos utilizados en el análisis. Colectores: DFSN: Dirección de Fauna Silvestre de la Nación, CLT: Conservation Land Trust, Zoo BsAs: Zoológico de Buenos Aires, IBS: Instituto de Biología Subtropical.

LAB	CAMPO	CODIGO NACIONAL	LOCALIDAD	OBSERVACIONES	Colectada por
Y2	PITOCA	0001D1FA54	Pque El Puma, Misiones	nacida en silvestría en Monte Carlo Misiones	DFSN
Y4	FAVORITINHO	0001D25782	Pque El Puma, Misiones	nacida en silvestría en Monte Carlo Misiones	DFSN
Y5	NIÑA MOZA	001D229CF	Pque El Puma, Misiones	nacida en silvestría en Monte Carlo Misiones	DFSN
Y6	BICHO		Pque El Puma, Misiones	nacida en silvestría en PP Uruguay	DFSN
Y8	TANIA	PO-0001D22F33	Zoo Batán	hija de Tobuna	CLT
Y9	TOBUNA	PO-00013D5F06	Zoo Batán	posible origen: Yungas	CLT
Y10	NAHUEL	PO-977200008186252	Zoo Bubalcó	macho, origen: Uruguay	CLT
Y11	PAON 8		Zoo Bs As	macho, de ECAS	Zoo Bs As
Y12	PAON10-TANGO		Zoo Bs As	macho, Reserva Carlos Pellegrini, Tucumán	Zoo Bs As
Y14	PAON 2		Zoo Bs As	macho, del Zoo de Córdoba	Zoo Bs As
Y15	PAON 3		Zoo Bs As	macho, Zoo Florencio Varela	Zoo Bs As
Y16	GUACURARÍ		PN IGUAZÚ	macho, silvestre	IBS
Y17	SALADA		PN IGUAZÚ	hembra, silvestre	IBS
Y18	GUAZÚ		PP URUGUAÍ	macho, silvestre	IBS
Y19	YASIRANDÍ		PPP PENÍNSULA	hembra, silvestre	IBS
Y20	YASITEÍ		PPP PENÍNSULA	hija de Yasirandí, silvestre	IBS
Y21	SALTA		F. Belgrano, Salta	cazado en Fortín Belgrano, Salta	DFSN
Y22	SGO DEL ESTERO		Santiago del Estero	cuero, silvestre	CLT
Y23	TINA2		Gja La Esmeralda, Sta Fe	muerta	DFSN
Y24	EVA	PO-977200008172448	Zoo Bubalcó	hembra, origen: Uruguay, posible hermana de Nahuel	DFSN
Y29	CAYETANO	PO-0001BB5A15	Zoo Sáenz Peña	macho, hijo de Toba y Chaco, parentales silvestres de Chaco	DFSN
Y30	CABEZA	PO-0001BB61D5	Zoo Sáenz Peña	nacido en silvestría, región chaqueña	DFSN
Y32	SAN	PO-0001DC3A40	Zoo Sáenz Peña	macho, hijo de Toba y Chaco, parentales silvestres de Chaco	DFSN
M11	BA-2		San Jorge	feca	IBS
M22	XX-02			feca	IBS
M23	XX-03		Reserva UM Guaraní	feca	IBS



Tabla 2: Genotipos obtenidos en los 10 microsatélites (indicados en la fila superior). Los números en cada individuo se corresponden con los alelos de cada microsatélite en ese individuo

LAB	124		391		453		441		146		742		98		723		740		741	
<b>TANIA</b>	206	210	233	237	194	214	156	176	172	172	178	186	191	191	202	202	172	172	206	214
<b>TOBUNA</b>	206	210	233	233	194	218	176	176	172	172	178	178	191	191	202	202	172	172	202	206
<b>NAHUEL</b>	202	202	229	237	214	214	176	180	172	172	194	194	188	191	202	202	169	172	202	202
<b>TANGO</b>	206	210	233	253	194	218	176	176	172	172	178	190	188	191	202	202	172	172	202	206

Tabla 3: Coeficientes de parentesco entre cada par de individuos.

	TA	TO	NA	TAN
<b>TANIA</b>	1			
<b>TOBUNA</b>	0.54	1		
<b>NAHUEL</b>	0	0	1	
<b>TANGO</b>	0.5	0.75	0	1



## 2- LINAJES GENÉTICOS

*Metodología.* Se secuenciaron 417 pares de bases correspondientes a la región control del ADN mitocondrial de 20 individuos de los cuales se había obtenido el genotipo previamente, incluyendo a TOBUNA, TANIA, NAHUEL y TANGO.

*Resultados.* Entre las 20 muestras se encontraron 6 haplotipos diferentes. La variabilidad detectada entre las secuencias fue mínima, siendo la diversidad nucleotídica de 0.00385. Con dichas secuencias se construyó un árbol filogenético (Figura 1), incluyendo secuencias de yagareté obtenidas del GENBANK. El árbol indica que todos los individuos analizados en este reporte forman parte de un mismo grupo genético, el cual se encuentra unido por el nodo indicado por un círculo rojo a otras secuencias del linaje Sur descrito en Eizirik et al 2001.

Otra forma de corroborar este resultado es utilizando el set de microsatélites amplificados. En este caso se utiliza el programa STRUCTURE (Pritchard et al. 2000), el cual utiliza un método Bayesiano para determinar, sin información previa, cuál es el número más probable de grupos genéticos en el cual pueden ser agrupadas las muestras. El resultado (Figura2) muestra que la mayor probabilidad indica un solo grupo genético para todas las muestras.

***CONCLUSIÓN. Puede afirmarse que todos los individuos analizados en este reporte pertenecen al mismo linaje genético, con lo cual cualquiera de ellos podría utilizarse en las cruas sin ningún riesgo de mezcla de linajes.***



Figura 1: Árbol de relaciones genéticas incluyendo los 20 individuos secuenciados en este reporte (Y) y secuencias obtenidas del Genbank (Eizirik et al 2001), las cuales están codificadas como pertenecientes al linaje Norte (NA) y Sur (SA).

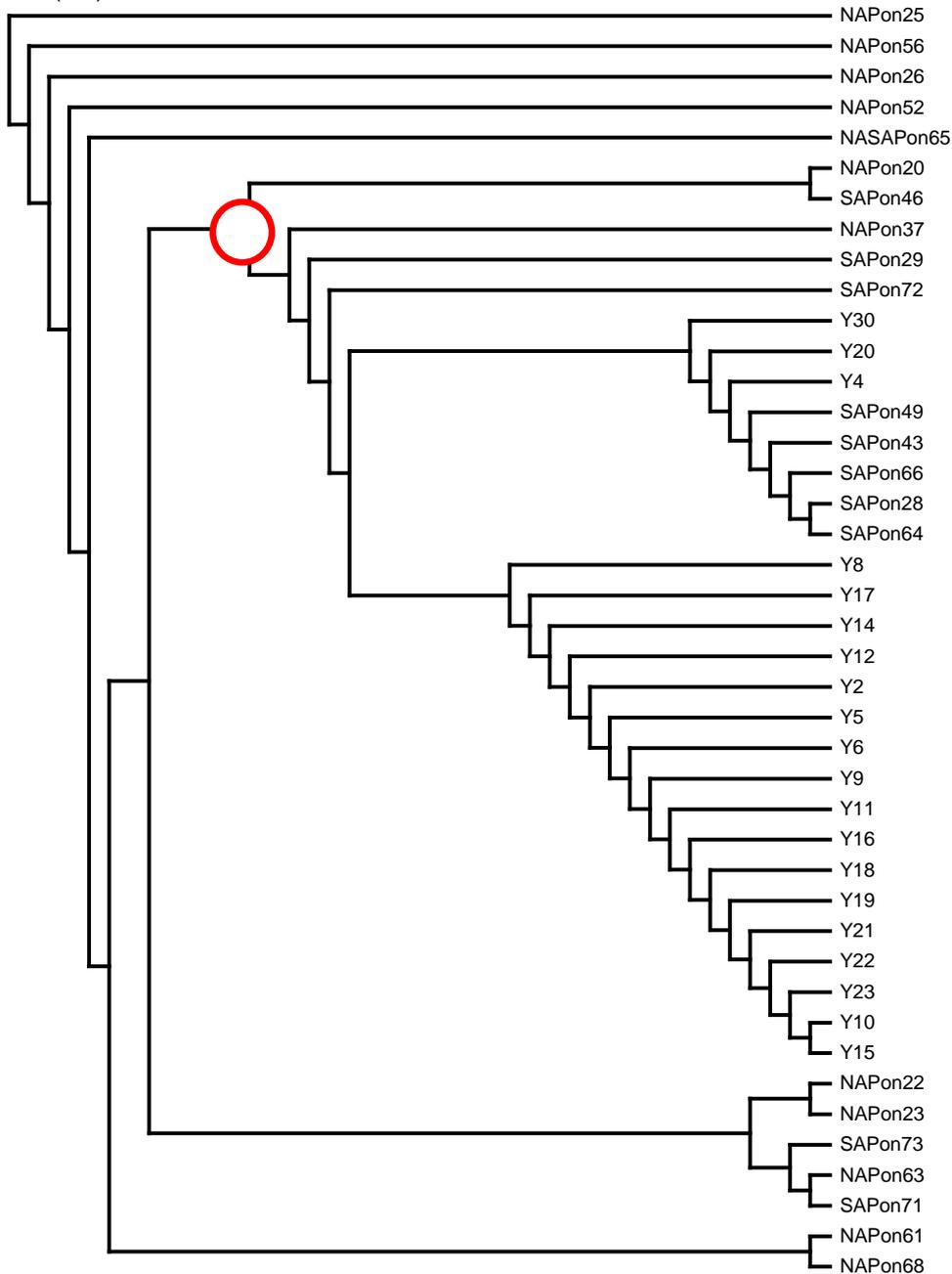
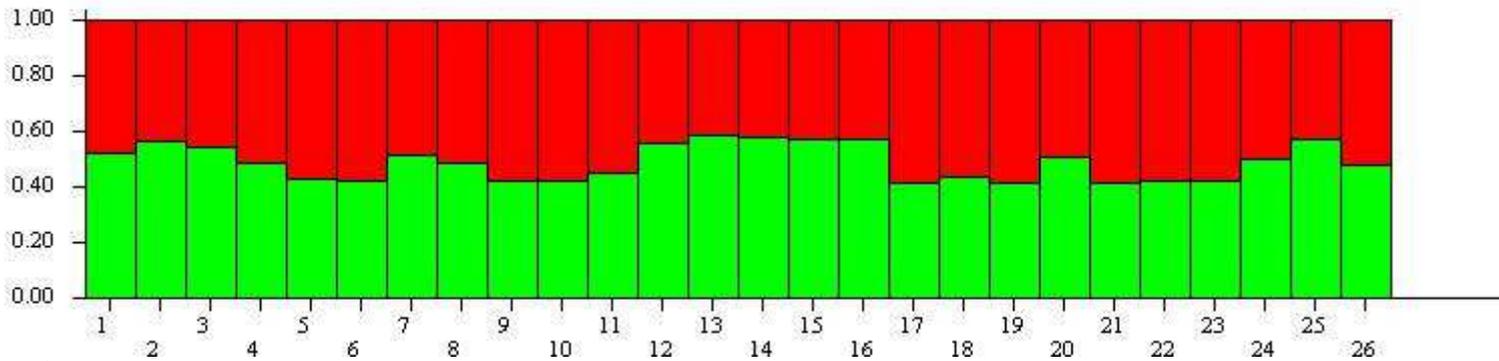




Figura 2: Resultados del agrupamiento en clusters genéticos de acuerdo a los microsatélites. Cada barra representa un individuo, y los colores indican a cada grupo genético. Como se ve, si se intenta dividir a los individuos en dos grupos, cada uno de ellos tendría una pertenencia de aproximadamente el 50% a cada grupo genético, lo que indica que en realidad la mayor probabilidad de agrupamiento de los individuos es en un único grupo.



#### Referencias

- Eizirik E, Kim JH, Menotti-Raymond M, Crawshaw PG, O'Brien SJ, Johnson WE (2001). Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Molecular Ecology* 10: 67-79.
- Kalinowski ST, AP Wagner, ML Taper (2006) *ML-Relate*: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes* 6:576-579.
- Menotti-Raymond M, David VA, Lyons LA, Schaffer AA, Tomlin JF, Hutton MK, O'Brien SJ. (1999). A Genetic Linkage Map of Microsatellites in the Domestic Cat (*Felis catus*). *Genomics* 57: 9-23
- Milligan BG (2003). Maximum-likelihood estimation of relatedness. *Genetics* 163: 1153-1167.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Taberlet P, Griffin S, Goossens B (1996). Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research* 26:3189-3194.

Dra. Patricia Mirol

Dra María Jimena Gómez Fernández

Daniela Font

Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia  
Grupo de Genética y Ecología en Conservación y Biodiversidad

Av. Angel Gallardo 470, (1405) Buenos Aires, Argentina. Telefax (054-11) 4982-5243 / 4494 / 0306