

Utilización de variables citogenéticas y antropométricas para un eficiente manejo de primates neotropicales en cautiverio

FERRE, D.¹; STEINBERG, E.R.^{2,3}; ALBARRACÍN, L.¹; PEDROSA, A.^{1,4}; HYNES, V.¹; DUARTE, A.^{1,4}; MUDRY, M.D.^{2,3}; GORLA, N.^{1,3,*}

Resumen

Los monos neotropicales de la colección del Zoológico de la Ciudad de Mendoza (ZMA), Argentina, fueron objeto de un estudio colaborativo que incluyó la toma de medidas antropométricas y el análisis citogenético básico (alfa). Se estudiaron 13 ejemplares del género *Alouatta sp.* (10 hembras y 3 machos), 2 *Cebus sp.* (una hembra y un macho) y 3 hembras *Saimiri sp.* Mediante la cariólogía se confirmó que los *Cebus* del ZMA se corresponderían con *C. paraguayanus* (2N=54, XX/XY) y los *Saimiri*, con *Saimiri boliviensis boliviensis* (2N= 44,XX). En los aulladores se corroboró su asignación de especie como *A. caraya* y se observó una morfología cromosómica, compatible con el ya descrito sistema de determinación sexual múltiple $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$. La oportunidad permitió que el ZMA implementara por primera vez la identificación de los ejemplares a través de la colocación de microchips numerados que permitirán su seguimiento y manejo en el tiempo.

Palabras clave: Parques Zoológicos, primates, citogenética, identificación.

Use of cytogenetic and anthropometric variables for an efficient management of Neotropical Primates in captivity

Summary

The neotropical primates which are part of the collection of the Mendoza Zoological Garden (ZMA) were object of a collaborative study that included the performance of anthropometrical measurements and classic cytogenetic analysis (alpha). Thirteen specimens of the genus *Alouatta* (10 females and 3 males), 2 *Cebus sp.* (1 male and 1 female) and 3 females of *Saimiri sp.* were studied. The karyological study allowed to confirm that the *Cebus* of ZMA corresponded to *Cebus paraguayanus* (2N=54, XX/XY) and the *Saimiri* to *Saimiri boliviensis boliviensis* species (2N = 44, XX). In the howler monkeys the species assignment was confirmed to *A. caraya* and a chromosomal morphology in the mitotic metaphases, compatible with the previously described and confirmed by meiosis, multiple sex determination system $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y_1Y_2$, was observed. This opportunity allowed the ZMA to implement the identification through the injection of numerated microchips that will facilitate its following and management.

Key words: Zoological Gardens, primates, cytogenetics, identification.

¹ Genética, Área de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales (FCVA), Universidad Juan Agustín Maza (UMaza), Mendoza; ² Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; ³ CONICET; ⁴ Zoológico de la ciudad de Mendoza; *Correspondencia: Dra. Nora BM Gorla. Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, Universidad Juan Agustín Maza. Acceso Este, lateral Sur 2245, (5519) Guaymallén, Mendoza. Fax: 54-261-4056209. noragorla@gmail.com

Recibido: 01.10.2009 - Aceptado: 16.03.2010

Introducción

Los Primates del Nuevo Mundo o Platyrrhini en la actualidad se distribuyen en los ambientes neotropicales y subtropicales de Centro y Sur América, donde la principal amenaza para sus poblaciones es la destrucción del hábitat y el cambio climático generado por la actividad humana. Los animales tomados de su estado silvestre y mantenidos en cautiverio, son el punto de partida para programas de manejo y en ciertos casos incluso de conservación^{1,4}. En este contexto, un equipo de investigación y docencia, Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, lleva a cabo investigaciones de larga data abarcando diferentes disciplinas bajo el marco del «Proyecto Primates». Su objetivo es lograr una caracterización integral de los primates neotropicales en su distribución natural sur más extrema como es nuestro país e incluye información brindada desde la biología, etología, ecología y genética de ejemplares de zoológicos, reservas y parques nacionales, estaciones de cría y centros de rehabilitación y museos, a los fines comparativos, de los diferentes taxa estudiados^{9, 12, 15}.

El objetivo de este trabajo fue estudiar los monos neotropicales del ZMA desde la antropometría y la citogenética clásica con coloración uniforme, como herramientas de valor diagnóstico taxonómico a nivel de especie de los platirrininos mantenidos en cautiverio de exhibición, para rediseñar la diagramación de la distribución de los ejemplares, a fin de orientar un posible mayor éxito en los cruzamientos, mejor calidad de vida y con ello un óptimo mantenimiento y manejo de los primates neotropicales en los recintos de esta institución. De este modo, desde la Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales local (Universidad Juan Agustín Maza) se colabora con el «Proyecto Primates».

Materiales y métodos

Se realizó el estudio citogenético de 13 *Alouatta sp.*, 3 *Saimiri sp.* y 2 *Cebus sp.* empleando cultivo de linfocitos de sangre periférica². Para poder realizar la toma de muestras se aplicó ketamina (Holliday Scott, Bs. As., Argentina, 10 mg/ Kg). Se realizó la toma de las siguientes medidas antropométricas: perímetro craneano, ancho entre parietales, longitud del cuerpo, longitud de la cola, longitud de mano derecha, longitud de pata trasera sin uña, longitud facial, peso del animal, longitud de extremidad posterior, longitud de extremidad anterior. El volumen testicular se midió utilizando un calibre Vernier metálico. Se colocó el microchip numerado (Trovan Rosenbusch, Bs. As., Argentina), en el miembro posterior derecho. Obtenidas las metafases, se efectuó la observación microscópica, se confeccionaron los cariotipos y se verificó la coincidencia o no con el ya publicado para la supuesta especie a la que pertenecería el animal en estudio: *Saimiri boliviensis boliviensis*⁵, *Cebus paraguayanus*¹³, *Alouatta caraya*¹⁰.

Los autores adhieren a la «Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio» del Consejo Canadiense para el Cuidado Animal (Canadian Council of Animal Care) y a los Principios de la Sociedad Americana de Primatología (American Society of Primatologists, ASP) para el Tratamiento Ético de los Primates No Humanos.

Resultados

Saimiri sp.

Las tres hembras de *Saimiri sp.* presentaron los siguientes datos morfométricos (Media \pm DE en cm) Perímetro craneal: 16,7 \pm 1,1; Ancho entre parietales: 6,7 \pm 1,1; Longitud del cuerpo: 28,8 \pm 6,4; Longitud de la cola: 32,7 \pm 17,1; Longitud mano derecha: 5,0 \pm 0,5; Longitud pata trasera: 8,0 \pm 0,0; Longitud facial: 5,7 \pm 0,6; Longitud extremidad

posterior: $26,0 \pm 3,0$; Longitud extremidad anterior: $18,5 \pm 1,3$. En esta oportunidad, por tratarse sólo de hembras, no se registra el dato de volumen testicular medio que si se comunica para las otras especies analizadas. Se observó un peso medio de $770,0 \pm 177,8$ g para las tres hembras. Presentaron $2n=44, XX$, con un valor medio para el índice mitótico de $0,8\%$. Las metafases somáticas analizadas, mostraron 5 pares de cromosomas metacéntricos, 10 pares de submetacéntricos y 6 pares de cromosomas acrocéntricos, con el putativo par sexual XX de morfología submetacéntrica.

Alouatta sp.

Las medidas antropométricas obtenidas en los ejemplares de *Alouatta* fueron para las hembras (Media \pm DE en cm): Perímetro craneal: $21,9 \pm 1,5$; Ancho entre parietales: $8,0 \pm 1,1$; Longitud del cuerpo: $43,5 \pm 4,3$; Longitud de la cola: $56,3 \pm 4,5$; Longitud mano derecha: $10,2 \pm 0,7$; Longitud pata trasera: $13,0 \pm 0,2$; Longitud facial: $12,6 \pm 0,9$; Longitud extremidad posterior: $28,3 \pm 1,5$; Longitud extremidad anterior: $26,3 \pm 1,2$; y para los machos: Perímetro craneal: $27,7 \pm 1,5$; Ancho entre parietales: $8,0 \pm 0,0$; Longitud del cuerpo: $50,0 \pm 0,0$; Longitud de la cola: $62,2 \pm 4,5$; Longitud mano derecha: $11,8 \pm 2,9$; Longitud pata trasera sin uña: $14,7 \pm 0,6$; Longitud facial: $14,7 \pm 0,65$; Longitud extremidad posterior: $34,3 \pm 3,2$; Longitud extremidad anterior: $31,2 \pm 1,2$. Los ejemplares se observan con la típica coloración del pelaje que hace al conocido dicromatismo sexual observando machos negros y hembras doradas. Todas las hembras eran adultas, excepto el ejemplar 00061DD942 que era una cría. En los adultos se observó un peso medio de $4,2 \pm 1,6$ kg para las hembras y $7,5 \pm 2,1$ kg para los machos. El volumen testicular medio fue de $(1,60 \pm 0,96) \times (1,60 \pm 1,62)$ cm para el testículo izquierdo y $(1,80 \pm 1,17) \times (1,65 \pm 1,63)$ cm para el testículo derecho. De las 50 metafases estudiadas por ejemplar de

Alouatta, el $76,5\%$ presentó el número cromosómico característico de la especie, $2n = 52$, observándose un $23,5\%$ de metafases aneuploides. El índice mitótico tuvo un valor medio de $1,51\%$. Se observó un complemento cromosómico autosómico compuesto por 9 pares submetacéntricos, 2 pares de metacéntricos y 15 pares de acrocéntricos.

Cebus sp.

Para el caso de los ejemplares caratulados en los recintos del ZMA como *Cebus*, cuando se analizaron las medidas morfométricas de un ejemplar adulto de cada sexo, se reunieron los siguientes datos (cm): para el macho: Perímetro craneal: $23,5$; Ancho entre parietales: $14,0$; Longitud del cuerpo: $42,0$; Longitud de la cola: $38,0$; Longitud mano derecha: $8,0$; Longitud pata trasera: $10,0$; Longitud facial: $11,0$; Longitud extremidad posterior: $38,0$; Longitud extremidad anterior: $25,0$; y para la hembra: Perímetro craneal: $20,0$; Ancho entre parietales: $10,0$; Longitud del cuerpo: $30,0$; Longitud de la cola: $33,0$; Longitud mano derecha: $7,0$; Longitud pata trasera: $10,0$; Longitud facial: $7,0$; Longitud extremidad posterior: $26,5$; Longitud extremidad anterior: $17,0$. El peso registrado fue de $2,6$ kg para el macho y $1,3$ kg para la hembra. El volumen testicular observado fue de $(2,0 \times 1,9)$ cm para el testículo izquierdo y $(2,0 \times 2,0)$ cm para el testículo derecho. Se observó un $2n=54, XX$ para la hembra y $2n=54, XY$ para el macho, con fórmulas cromosómicas: 8 pares submetacéntricos, 2 pares metacéntricos y 17 acrocéntricos donde el potencial cromosoma X presentó morfología submetacéntrica y el cromosoma Y, acrocéntrica. El índice mitótico para cada uno de estos individuos fue $0,5\%$.

Discusión

Se corroboró que las medidas antropométricas de los ejemplares muestreados están en el orden de magnitudes de las observadas

en los ejemplares en estado silvestre (*Alouatta caraya*⁹, *Cebus paraguayanus*⁷, *Saimiri boliviensis*⁶). En los zoológicos es importante recurrir a parámetros morfométricos y de coloración de pelaje en la diagnosis sistemática de los ejemplares de primates mantenidos en cautiverio. En determinadas especies, la variedad de fenotipos y edades, genera confusiones de graves consecuencias, principalmente en el momento de organizar los grupos de individuos para alojar en cada recinto. No se necesitan muchas generaciones de endogamia antes que la constitución genómica de las poblaciones de los zoológicos se vuelva una amalgama que no sea ya representativa de la población natural, donde estos grupos no debieran ser considerados como adecuados para proponer planes de conservación y manejo⁴. Esta es una de las razones que hacen deseable establecer colonias con individuos provenientes de regiones geográficas reconocidas al facilitar o recibir animales para apareamiento y reproducción, mantener su integridad⁴.

La fórmula cromosómica y el fenotipo observados en los ejemplares hembra de *Saimiri* del ZMA están en concordancia con los de ejemplares estudiados previamente en otros centros de cautiverio y Zoos de Argentina correspondiendo al cariotipo descrito para *Saimiri boliviensis boliviensis*^{5, 8, 15}.

En el caso de los aulladores, al observar la relación entre medidas corporales, distribución del pelaje y cariólogía se corroboró la asignación de especie *Alouatta caraya* nombre a los recintos del ZMA. Al estudiar la fórmula cromosómica, surge que de los 9 pares de cromosomas submetacéntricos, un par heteromórfico siempre presente en los machos podría asignarse como par autosómico número 7 el cual, por estudios previos, tanto en mitosis como en meiosis, sería el par que participa de una translocación recíproca con el cromosoma Y, caracterizado por mitosis y confirmado por meiosis, formando un sistema de determinación sexual múltiple de tipo cuadrivalente $X_1X_2Y_1Y_2$ observable en los machos^{10,11,14}. Para los

aulladores del ZMA se corroboró la asignación de sexo ya que en un mismo recinto se había diagramado el grupo sólo con hembras teniendo en cuenta el pelaje más oscuro de una de ellas, pensando en un macho juvenil, situación aclarada a partir del análisis citogenético.

En los ejemplares analizados del género *Cebus*, el patrón de coloración de pelaje acorde al descripto³ permitió clasificarlos como *Cebus paraguayanus*. En ambos ejemplares, el observar sólo 6 cromosomas acrocéntricos de menor tamaño, en concordancia con el patrón cariotípico previamente publicado para esta especie, permitió confirmar su asignación taxonómica, dada su clara distinción desde la cariólogía de tipo alfa, con la especie hermana *Cebus nigrinus*¹³.

En todos los ejemplares estudiados los valores obtenidos para el parámetro índice mitótico fueron bajos, ya que no alcanzaron un valor medio de 2%. Esto podría deberse a las condiciones dadas por el cautiverio.

Como conclusión, se confirmó la presencia en el ZMA de 2 *Cebus paraguayanus*, 5 *Saimiri boliviensis boliviensis* y 13 *Alouatta caraya*. Si bien en este trabajo el relacionar la morfometría y coloración de pelaje con cariólogía alfa (metafases somáticas con tinción estándar) permitió la diagnosis taxonómica, se recomienda la utilización de una mayor batería de estudios citogenéticos para una más completa caracterización, tales como bandas G y C en metafases somáticas, estudios meióticos y técnicas citomoleculares como la Hibridación *in situ* Fluorescente (FISH). Enfatizamos la importancia de utilizar el mayor número de variables/caracteres posibles para identificar y clasificar, en el nivel taxonómico correcto los ejemplares de procedencia desconocida. Este último es el caso de los animales que se mantienen en cautiverio de exhibición por provenir de mascotismo o de incautaciones de fauna¹, por donaciones, o en aquellos que son utilizados en diseños experimentales para aplicaciones en distintas ramas de la investigación biomédica o comportamental.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido económicamente posible gracias a subsidios de UMaza, y MDM-PIP 5012 CONICET y MDM-UBACyT X107, GIBE, FCEyN, UBA, CONICET.

Bibliografía

1. Baschetto F. *Repensando los Zoológicos de la Argentina. Manifiesto*. Editorial DUNKEN, Buenos Aires, Argentina, 2000.
2. Buckton K, H Evans. *Method for the Analysis of Human Chromosome Aberrations*. WHO Publications, Ginebra, Suiza, 1973.
3. Cabrera A. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. *Rev Mus Argent Cienc Nat Bernardino Rivadavia Cien. Zool* 1958; 4: 1-307.
4. Fogle T. Role of Cytogenetics for Breeding Management of Squirrel Monkey Colonies. *Zoo Biology* 1990; 9: 373-383.
5. García M, A Borrel, MD Mudry, J Egozcue, M Ponsá. Prometaphase karyotype and restriction-enzyme banding in squirrel monkey, *Saimiri boliviensis boliviensis* (Primates: Platyrrhini). *J Mammal* 1995; 76: 497-503.
6. Hershkovitz P. Taxonomy of squirrel monkeys genus *Saimiri* (Cebidae, Platyrrhini): a preliminary report with description of a hitherto unnamed form. *Am J Primatol* 1984; 7: 155-210.
7. Mantecon MAF, Mudry de Pargament MD, Brown A. *Cebus apella* de Argentina, distribución geográfica, fenotipo y cariotipo. *Zool* 1984; XIII: 399-408.
8. Mudry de Pargament MD, Slavustky I, Brieux de Salum S. Estudios citogenéticos en *Saimiri sciureus* de Bolivia. *Mendeliana* 1982; 5: 81-90.
9. Mudry MD, Szapskiewich V, Hick A, Giudice AM, Zunino GE. *Primateology in Argentina: Studies in evolution, ecology and captive management*. *Neotropical Primates* 1996; 4: 80-83.
10. Mudry MD, Rahn M, Gorostiaga M, Hick A, Merani MS, Solari AJ. Revised karyotype of *Alouatta caraya* (primates: Platyrrhini) based on synaptonemal complex and banding analyses. *Hereditas* 1998;128: 9-16.
11. Mudry M, Rahn IM, Solari AJ. Meiosis and Chromosome Painting of Sex Chromosome Systems in Ceboidea. *Am J Primatol* 2001; 54: 65-78.
12. Nieves M, Martínez R, Steinberg ER, Mudry MD. Proyecto Primates: Caracterización Genética de Primates en cautiverio. *Zool Latinoam* 2003; 5: 3-6.
13. Ponsá M, García M, Borrell A et al. Heterocromatin and Cytogenetic Polymorphisms in *Cebus apella* (Primates, Platyrrhini). *Am J Primatol* 1995; 37: 325- 331.
14. Rahn MI, Mudry M, Merani S, Solari AJ. Meiotic behavior of the $X_1X_2Y_1Y_2$ quadrivalent of the primate *Alouatta caraya*. *Chromosome Res* 1996; 4: 350-356.
15. Steinberg ER, Nieves M, Ascunce MS, Palermo AM, Mudry MD. Morphological and Genetic Characterization of *Saimiri boliviensis*. *Int J Primatol* 2009; 30: 29-41.

