

POLIMORFISMOS BIOQUIMICOS EN CABALLOS

(BIOCHEMICAL POLYMORPHISMS IN HORSES)

por

A. ARIZA, D. F. DE ANDRES, P. AGUILAR, A. ALVAREZ, y R. GARZON*

I. Introducción.

Es grande el interés por los caballos tanto desde el punto de vista del deporte como del mantenimiento de la pureza de razas. Se invierten grandes cantidades de dinero en su cría y cuidado así como en su mejora. Lógica consecuencia de esto es una fuerte demanda de medios objetivos y eficaces mediante los cuales se pueda diagnosticar la descendencia y conservar la pureza de las razas.

Con estas premisas surge la necesidad de un control fiable de la identidad del caballo individualmente, en distintos momentos. Es también importante, con vistas a los libros genealógicos, el disponer de técnicas para comprobar el parentesco asignado al animal y resolver los posibles casos de paternidad dudosa.

Los estudios realizados en distintos laboratorios de diferentes países sobre el polimorfismo bioquímico sanguíneo del caballo tenían como fin primordial, en un principio, el de la investigación pura, frecuentemente aislada de la aplicación a esta especie de lo conocido en otras especies, tales como el hombre y los bovinos. Se trataba de estudiar la distribución y la transmisión de los alelos demostrados en el material disponible. Rápidamente, no obstante, se intentó conciliar las dos posturas, enfocándose la hasta entonces investigación básica hacia los problemas de identificación, realizando exclusiones de paternidad en los casos en que ésta era dudosa. En un paso posterior, estos estudios sobre polimorfismo bioquímico sanguíneo del caballo se han orientado hacia la identificación individual mediante lo que podríamos llamar su "fórmula sanguínea".

* Sección de grupos sanguíneos y polimorfismo bioquímico (C.S.I.C.) Departamento de genética. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

Recibido para publicación el 19-7-79.

Sucesivas investigaciones, más completas y coordinadas, han permitido poner en evidencia la existencia de diferencias notables entre las razas de sangre y las razas de tiro, a la vez que han permitido establecer que cada raza posee una casi individualidad genética propia, mientras que sub-poblaciones de una misma raza, pertenecientes a distintos países, presentan un elevado grado de semejanza genética.

A pesar de este interés generalizado, en los países desarrollados, por el estudio del polimorfismo bioquímico sanguíneo del caballo y su aplicación en los campos mencionados, en España los trabajos sobre el particular eran muy escasos, si no inexistentes, hasta que el Laboratorio de grupos sanguíneos y polimorfismo bioquímico de la Facultad de veterinaria de la Universidad de Córdoba, coordinada con el Consejo superior de investigaciones científicas, decidió comenzar un estudio sistemático del tema, a la luz de los trabajos realizados por los laboratorios de diferentes países, con objeto de montar y perfeccionar las técnicas desarrolladas por éstos, a fin de, llegado el caso, poder efectuar la tipificación rutinaria de la sangre de los caballos de las diferentes cuadradas de particulares del país, así como de las pertenecientes al Estado, estacionadas en los Depósitos de sementales y yegudas que éste posee.

Los estudios realizados hasta la fecha incluyen el polimorfismo de hemoglobina, albúmina, esterasa alcalina y transferrina, una muestra de los cuales se presenta en este trabajo respecto a las razas inglesa-árabe, española y bretona y a los cruces anglo-árabe e hispano-bretón.

II. *Revisión bibliográfica.*

Hemoglobina. (Hb). El polimorfismo hemoglobínico en caballos fue descrito por primera vez por Cabannes y Serain (1955).

Schmid (1965) sugiere que los tres fenotipos observados estaban controlados por un sistema genético en el que los dos alelos Hb^A y Hb^a son activos. El genotipo $Hb^A Hb^A$ controla una amplia banda, el heterocigoto $Hb^A Hb^a$ presenta una banda más débil y en el homocigoto $Hb^a Hb^a$ la banda está ausente.

Braend y Stormont (1964) realizaron estudios en U. S. A. sobre la raza Döle y encontraron muchos caballos con una sola banda de hemoglobina. Observaron además que existe una variación con respecto a las cantidades relativas de hemoglobina en los dos tipos de bandas.

Albúmina. (Al). C. Stormont y Y. Suzuki (1963) demostraron que la albúmina es una proteína polimórfica. En sus investigaciones encontraron tres fenotipos de albúminas: AA, AB y BB. Por el análisis de las frecuencias génicas interpretaron que los tres fenotipos estaban controlados por un par de alelos autosómicos codominantes Al^A y Al^B .

Braend (1964) encontró tres fenotipos de albúminas, a los que denominó AA, AB y BB. Este mismo investigador demuestra en 1967 que la separación de los distintos tipos de albúminas se puede realizar a un pH alcalino, pero que se obtiene una mejor resolución con un pH entre 5 y 6. Los alelos que controlan los tres fenotipos encontrados son denominados por Braend Al^F y Al^S ; y los fenotipos, FF, FS y SS.

Bengtson, Gahne y Rendell (1968) observaron los tres fenotipos de albúminas. Los datos obtenidos estaban de acuerdo con la teoría, propuesta por Braend en 1967, de una pareja de alelos autosómicos codominantes Al^F y Al^S .

Schleger (1974) realizó un estudio sobre polimorfismo genético en suero y en eritrocitos de caballo y encontró las dos bandas normales F y S de albúmina. Realizando cálculos de frecuencias génicas observó que existen diferencias con respecto a estas frecuencias entre las razas. En las poblaciones investigadas de caballos ingleses el alelo F se presentaba con una frecuencia baja. En los caballos lipizzanos húngaros y checos la frecuencia de este alelo era aún menor. En los caballos Haflinger, Döle, árabes, ponies de Basuto y trotones austríacos, la frecuencia del alelo F supera el 50 p. 100.

Esterasa alcalina. (Es-cal) Gahne (1966) describió un sistema para la esterasa compuesto por cuatro alelos Es^F , Es^I , Es^S y Es^O . Los tres primeros son autosómicos codominantes y el alelo Es^O conduce a la ausencia de esterasa en caso de homocigosis.

Kaminski (1969-1970), trabajando con sueros de caballos, asnos y cebras, y sus híbridos, describe una esterasa no lipoproteica de localización α_1 -globulina, que hidroliza el alfa y beta-naftilacetato (carboxil-éster hidrolasa), como característica del caballo en sus diferentes razas (gén. *Equus*), no presente en el suero de burro y de cebra. En cambio esta esterasa sí aparecía en el suero de los híbridos en los que el caballo era uno de los padres.

Bengtsson, Gahne y Rendel (1968), en un estudio sobre caballos suecos pertenecientes a cuatro razas distintas (inglés, ardenés, sueco del norte y ponies de Gotland) confirmaron con sus resultados la herencia de las variantes polimórficas de la esterasa-5 (Es_5) a pH alcalino, determinada por un sistema de tres alelos codominantes y uno recesivo, propuesta por Gahne en 1966.

Kaminski (1973), a partir de los datos suministrados por numerosos investigadores de diversos países, sobre razas muy variadas, concluye que la frecuencia del alelo Es^I es la más elevada de los cuatro alelos descritos por Gahne; la del alelo Es^S es muy baja, y aún menor la del alelo Es^O . Así mismo comunica la bajísima frecuencia del alelo Es^F en los P. S., árabes y anglo árabes, y su relativa frecuencia en los caballos de tiro.

Comunicaciones de otros autores, como Podliachouk y Kaminski (1976), Osterhoff y Ward-Cox (1967), Schleger y Mayrhofer (1973), Scheleger (1974), trabajando con diversas razas de caballos, han corroborado los resultados y conclusiones expuestas hasta aquí.

Transferrinas. (Tf). Braend y Stormont (1964) investigaron el sistema de transferrinas y encontraron seis alelos con herencia codominante: Tf^D, Tf^F, Tf^H, Tf^M, Tf^O y Tf^R.

Kaminski (1965) comparó las frecuencias de las transferrinas e indicó el reparto de alelos: la banda M no se observa más que en los ponies; las frecuencias de los alelos Tf^O y Tf^R son generalmente más pequeñas, mientras que la banda F es la que se presenta más a menudo, seguida de la banda D. También observa que la banda D es la más frecuente en los caballos ligeros, lo mismo que la banda F, mientras que la banda H es más común en los caballos pesados, por lo que las bandas descritas podrían emplearse como marcadores para distinguir los dos grupos. Observó además que el alelo Tf^R está ausente en las diversas poblaciones árabes y presente en la misma tasa que el alelo Tf^O entre los ingleses.

Hesselhot (1966) encontró 21 fenotipos distintos de transferrinas, formados por combinación de seis alelos, distintos electroforéticamente, de lo que dedujo que en los caballos la síntesis de transferrinas está determinada por seis alelos, a los que designó con la nomenclatura propuesta por Braend y Stormont en 1964.

Gahne (1966) encontró todos los alelos de transferrina, excepto el Tf^M. Comparó sus tipos con muestras de sangre de caballos noruegos clasificados por Braend y vio que todos los patrones de transferrina estaban de acuerdo con los descritos por Braend y Stormont en 1964.

Investigaciones posteriores de Osterhoff (1966), Bengtsson, Gahne y Rendel (1968), Schleger y Mayrhofer (1973), Kaminski y col. (1974), Podliachouk y col. (1975), Buis (1976), etc., han demostrado y confirmado lo expuesto anteriormente.

III. *Material y métodos.*

Las 168 muestras de sangre analizadas han sido: 40 caballos de raza inglesa, pertenecientes, 13 al 7.º Depósito de sementales del Estado y 27 a la ganadería de la finca Cuevas Altas de Artaza (Córdoba, España). El resto de las muestras pertenecía al 7.º Depósito de sementales del Estado y se distribuían del siguiente modo: 18 caballos de raza árabe, 64 caballos de raza española, 12 caballos bretones, 12 caballos anglo-árabes y 22 caballos hispano-bretones.

Las técnicas han sido:

Hemoglobina. Electroforesis sobre acetato de celulosa, empleada por Rodero, Garzón y Castejón (1963). El tampón es TRIS-glicerina, de pH 9,5. El soporte consistía en tiras de acetato de celulosa, de 5,7 x 14, sobre puente de 11 cm. La migración ha

en tiras de acetato de celulosa, de 5,7 x 14 sobre puente de 11 cm. La migración ha sido de unos 4 cm a un voltaje fijo de 200 V, durante 75 minutos.

Albúmina Se ha empleado la técnica electroforética sobre gel de almidón horizontal descrita por Kristjansson (1963) y modificada por Efremov y Braend (1964). El tampón era TRIS cítrico, de pH 6,3 y el tampón puente estaba compuesto por ácido bórico e hidróxido sódico de pH 8,7.

El tiempo de inserción de las muestras fue de 5 minutos a 100 V, aplicando una corriente de 175 V una vez retiradas las muestras. Este valor se mantuvo hasta el final del corrido electroforético, con un avance aproximado de 7 cm. El tiempo de electroforesis era de 4 horas, aproximadamente.

Esterasa. La técnica ha sido el sistema de búfer discontinuo tris-citrato-borato, (pH 8,7), adaptación de Kaminski (1969) de la modificación de Gahne (1963) a la técnica original de Smithies (1959).

El tiempo de inserción de las muestras fue de 30 minutos a 400 V. Una vez retiradas las muestras se aplica un voltaje de 500 V, correspondiente a 80 mA (valores indicados por los testigos de las fuentes de alimentación). Estos valores se mantienen hasta el final, con un avance aproximado de unos seis centímetros de las bandas de esterasa-5. El tiempo de electroforesis era de 3 1/2 horas, aproximadamente.

Transferrina. Para la separación de las distintas bandas de transferrina se ha empleado el método electroforético sobre gel de almidón horizontal descrito por Kristjansson (1963) y modificado por Efremov y Braend (1964), con un tampón gel tris-cítrico (pH 7,6) y un tampón puente compuesto de ácido bórico e hidróxido sódico (pH 8,7).

El tiempo de inserción de las muestras duró media hora a 300 V. Una vez retiradas se ha graduado la intensidad de la corriente a 40 mA y se mantuvo así hasta el final de la electroforesis, con un corrido aproximado de 7 cm y un tiempo de unas 3 1/2 horas.

IV. Resultados.

Hemoglobina. (Hb).

Hemos encontrado los tres fenotipos posibles de hemoglobina: *AA*, *Aa* y *aa*, con predominio del tipo *AA* seguido del *Aa* y del *aa*, que sólo se detectó en un caballo español.

Realizado el cálculo de las frecuencias génicas se observan valores correspondientes al alelo A similares a los de las restantes razas y cruces. Alcanzan el valor de la unidad en los caballos árabes y bretones y en el cruce hispano-bretón. Valores similares se observan en las frecuencias correspondientes al alelo *a*, en las razas en que aparece: inglesa, española y cruce anglo-árabe.

Realizada la prueba de ji cuadrado, para ver si existe equilibrio de Hardy-Weinberg, observamos que no se encuentra en equilibrio, con un 99 p. 100 de certeza para el inglés y el español, y con un 99,9 p. 100 de seguridad para el cruce anglo-árabe.

Se han construido tablas de contingencia para comprobar si existe asociación con respecto a este polimorfismo entre el caballo español y las distintas razas y cruces. No se han encontrado asociación a ningún nivel de significación.

Albúmina (Al).

Se han observado los tres fenotipos posibles: FF, FS y SS, con predominio del FS, seguido del SS.

Obtenidos los porcentajes de homocigotos y heterocigotos en las distintas razas y cruces se observa que en los primeros el valor más elevado corresponde al cruce hispano-bretón; y el menor, a los ingleses. Lo contrario sucede a los heterocigotos, es decir, el valor más elevado corresponde a los ingleses y el menor al cruce hispano-bretón.

Realizada la prueba de ji cuadrado para ver si existe equilibrio Hardy-Weinberg, se puede asegurar que todas las razas y cruces se hallan en equilibrio, excepto la raza inglesa (para un nivel de significación del 95 p. 100).

Se han construido tablas de contingencia para comprobar si existe asociación con respecto a este polimorfismo entre el caballo español y las distintas razas y cruces investigados, y existe con un nivel de significación del 99 p. 100 entre caballos españoles e ingleses.

Esterasa-al. (Es-al).

De los siete posibles fenotipos sólo hemos encontrado cuatro: F, I, e IS, con marcado predominio del fenotipo I, seguido del FI, e IS.

Realizado el cálculo de las frecuencias génicas se observa que el valor más elevado para el alelo *F* corresponde al cruce hispano-bretón, y falta en el cruce anglo-árabe. Para el alelo *I* el valor más elevado corresponde al caballo árabe y el más bajo, al cruce hispano-bretón. Para el alelo *S* el valor más alto se da en el caballo inglés, y falta en los caballos árabes, españoles, bretones y en el cruce hispano-bretón.

No ha sido posible detectar el alelo silencioso *O*, ya que con las técnicas empleadas sólo es posible detectarlo en homocigosis y este caso no se ha presentado.

Realizada la prueba de ji cuadrado para ver si existe equilibrio de Hardy-Weinberg, se ha observado que sí, con una seguridad del 99 p. 100 en el cruce anglo-árabe y del 99,9 p. 100 en el caballo árabe.

De las tablas de contingencia para comprobar si existe asociación con respecto a este polimorfismo entre la raza española y las demás razas y cruces investigados, se encontró asociación con el caballo inglés (99 p. 100) y con el cruce hispano-bretón (95 p. 100).

Transferrina (Tf).

De los 21 posibles fenotipos se han encontrado 15, de los cuales tres son homocigotos (DD, FF y RR) y el resto heterocigotos (DF, DH, DM, DO, DR, FH, FM, FO, FR, HM, HO y HR).

Calculadas las frecuencias génicas se observa:

Alelo Tf^D: mayor frecuencia en el caballo inglés y menor en el caballo bretón.

Alelo Tf^F: mayor frecuencia en el caballo bretón y menor en los cruces anglo-árabe e hispano-bretón.

Alelo Tf^H: mayor frecuencia en el caballo bretón y en el cruce anglo-árabe y menor en el inglés; nula en el caballo árabe.

Alelo Tf^M: mayor frecuencia en el cruce hispano-bretón y menor en el caballo inglés.

Alelo Tf^O: mayor frecuencia en el cruce anglo-árabe y menor en el inglés.

Alelo Tf^R: mayor frecuencia en el cruce hispano-bretón, menor e igual en los caballos inglés y español, y nula en el árabe, bretón y cruce anglo-árabe.

Realizada la prueba de ji cuadrado para ver si existe equilibrio de Hardy-Weinberg, se ha observado que todas las razas y cruces investigados se encuentran en equilibrio, excepto el caballo árabe, con un nivel de seguridad del 99,9 p. 100.

Se han construido tablas de contingencia para comprobar si existe asociación con respecto a este polimorfismo, entre la raza española y las demás razas y cruces investigados. No la hay en ninguno de los casos.

V. *Discusión.*

Sistema Hb. Al igual que en las experiencias realizadas por Schmid (1965), Braend y Efremov (1965), Braend (1967) y Sandberg y Bengtsson (1972), en caballos de Noruega y Lipizza principalmente, nosotros también hemos encontrado tres tipos de hemoglobina en el grupo de caballos estudiados. La nomenclatura empleada es la misma que utilizó Schmid (1965). Sin embargo es poco significativa la diferencia de frecuencias con que se encuentran estas variantes, ya que los porcentajes más elevados o más bajos de uno u otro tipo no se dan con preferencia en ninguna raza determinada. Sí conviene hacer constar que en la variedad hemoglobínica homocigota dominante (AA), correspondiente a una doble banda en la que se tiñe con

CUADRO I. Frecuencias génicas de los distintos loci. Razas y cruces.

Sistema	Alelo	Inglés	Arabe	Español	Bretón	Anglo-árabe	Hispano-bretón
<i>Hb</i>	Hb ^A	0,97	1	0,98	1	0,96	1
	Hb ^a	0,03	0,00	0,02	0,00	0,04	0,00
<i>Al</i>	Al ^F	0,30	0,50	0,54	0,29	0,42	0,36
	Al ^S	0,70	0,50	0,46	0,71	0,58	0,64
<i>Es</i>	Es ^F	0,05	0,03	0,24	0,21	0,00	0,50
	Es ^I	0,85	0,97	0,76	0,79	0,96	0,50
	Es ^S	0,10	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
<i>Tf</i>	Tf ^D	0,33	0,31	0,25	0,17	0,21	0,21
	Tf ^F	0,50	0,52	0,52	0,54	0,45	0,45
	Tf ^H	0,04	0,00	0,05	0,08	0,08	0,07
	Tf ^M	0,05	0,10	0,09	0,13	0,13	0,14
	Tf ^O	0,04	0,07	0,05	0,08	0,13	0,07
	Tf ^R	0,04	0,00	0,04	0,00	0,00	0,06

CUADRO II. Distribución de fenotipos observados y esperados

Sistema: *Hb.*

	Inglés		Arabe		Español		Bretón		Anglo-árabe		Hispano-bretón	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
AA	38	38	18	18	63	61,5	12	12	11	11,06	22	22
Aa	2	1,95	0	0	0	2,5	0	0	1	0,92	0	0
aa	0	0,03	0	0	1	0,03	0	0	0	0,02	0	0
χ^2	9,1354 **		0,0139		8,9892**		0,0208		11,7292 ***		0,0114	
N.º	40		18		64		12		12		22	

Sistema: *Al.*

FF	0	3,6	4	4,5	19	18,56	1	1,02	3	2,04	5	2,86
FS	24	16,8	10	9	31	32	5	5,04	4	5,88	6	10,12
SS	16	19,9	4	4,5	14	13,44	6	6,12	5	4,08	11	8,91
χ^2	5,8318		0,0278		0,0083		0,2915		0,4708		2,5191	
GL	1		1		1		1		1		1	
N.º	40		18		64		12		12		22	

Sistema: *Es.*

FF	0	0,12	0	0,01	5	3,76	1	0,52	0	0	5	5,5
II	29	29,76	17	17,01	38	36,75	8	7,52	11	11,02	5	5,5
FI	4	3,44	1	0,97	21	23,49	3	3,96	0	0	12	11
IS	7	6	0	0	0	0	0	0	1	0,96	0	0
FS	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SS	0	0,31	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0
χ^2	1,3898		17,1130 **		0,3295		0,0543		11,7606 **		0,0227	
GL	3		1		1		1		1		1	
N.º	40		18		64		12		12		22	

CUADRO III.

Sistema: Tf.

	Inglés		Arabe		Español		Bretón		Anglo-árabe		Hispano-bretón	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
DD	4	4,56	0	1,68	3	4	0	0,33	1	0,52	0	0,92
DF	15	13,5	9	5,5	21	16,75	1	2,17	3	2,29	8	4,09
DH	1	1,01	0	0	1	1,25	1	0,33	0	0,42	0	0,61
DM	2	1,35	1	1,22	2	2,75	1	0,5	0	0,62	0	1,23
DO	1	1,01	1	0,91	1	1,75	1	0,33	0	0,62	0	0,61
DR	0	1,01	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0,61
FF	9	10	2	4,5	14	17,53	4	3,52	2	2,52	2	4,54
FH	1	1,5	0	0	2	2,62	1	1,08	0	0,92	1	1,36
FM	2	2	3	1,99	9	5,75	2	1,63	2	1,37	4	2,73
FO	1	1,5	2	0,05	6	3,66	1	1,08	2	1,37	2	1,36
FR	3	1,5	0	0	1	2,1	0	0	0	0	1	1,36
HH	0	0,06	0	0	0	0,1	0	0,08	0	0,08	0	0,1
HM	0	0,15	0	0	0	0,43	0	0,25	1	0,25	1	0,2
HO	1	0,11	0	0	0	0,27	0	0,17	1	0,25	1	0,2
HR	0	0,11	0	0	2	0,16	0	0	0	0	0	0,2
MM	0	0,1	0	0,22	0	0,47	0	0,19	0	0,19	0	0,41
MO	0	0,15	0	0,33	0	0,6	0	0,25	0	0,38	0	0,41
MR	0	0,15	0	0	0	0,34	0	0	0	0	0	0,41
OO	0	0,06	0	0,12	0	0,19	0	0,08	0	0,19	0	0,1
OR	0	0,11	0	0	0	0,22	0	0	0	0	0	0,2
RR	0	0,06	0	0	1	0,06	0	0	0	0	1	0,1
χ^2	20,18		491,42 **		21,55		6,65		3,97		10,34	
Gl.	15		6		15		10		10		15	
N. ^o	40		18		64		12		12		22	

CUADRO IV. Pruebas de asociación de los polimorfismos estudiados con la raza equina española, otras razas y sus cruces.

Sistema: *Hb*.

Razas y cruces	Valor de χ^2	G. L.	Significación
Español y P. S.	1,1895	2	N. S.
Español y árabe	0,4642	1	N. S.
Español y bretón	0,8919	1	N. S.
Español y anglo-árabe	1,7638	2	N. S.
Español e hispano-bretón	0,3169	1	N. S.

Sistema: *Al*.

Español y P. S.	12,9386	2	p < 0,01
Español y árabe	0,1780	2	N. S.
Español y bretón	3,1034	2	N. S.
Español y anglo-árabe	1,1172	2	N. S.
Español e hispano-bretón	4,8777	2	N. S.

Sistema: *Es*.

Español y P. S.	15,3548	3	p < 0,01
Español y árabe	5,4373	2	N. S.
Español y bretón	0,2863	2	N. S.
Español y anglo-árabe	5,0177	3	N. S.
Español e hispano-bretón	7,1648	2	p < 0,05

Sistema: *Tf*.

Español y P. S.	4,2495	13	N. S.
Español y árabe	3,1109	12	N. S.
Español y bretón	4,7467	12	N. S.
Español y anglo-árabe	6,6941	14	N. S.
Español e hispano-bretón	2,9246	14	N. S.

CUADRO V. Porcentajes de homocigotos y de heterocigotos en el sistema albúmina, en las distintas razas y cruces.

Razas y cruces	Homocigotos p. 100	Heterocigotos p. 100
Inglés	40,00	60,00
Arabe	44,44	55,56
Español	51,56	48,44
Bretón	58,33	41,67
Anglo-árabe	66,67	33,33
Hispano-bretón	72,73	27,27

mayor intensidad la que posee un desplazamiento más rápido, se ha dado un porcentaje más elevado en comparación con los otros tipos de hemoglobina detectados.

Sistema Al. Se han encontrado los dos alelos descritos por Braend (1964): Al^F y Al^S .

A lo largo de nuestra investigación hemos visto los tres fenotipos descritos por Braend (1964): FF, FS y SS. Sin embargo, no hemos descubierto el alelo Al^I descrito por Sandberg (1972).

En todas las razas hemos comprobado los tres fenotipos, a excepción de la raza, inglesa, en la que no aparece el fenotipo FF. Este hecho ya fue puesto de manifiesto, por Schleger (1974).

Al efectuar un estudio comparativo de las frecuencias génicas, vimos igual que Podliachouk y col. (1975), que la frecuencia del alelo Al^S es superior en todas las razas y cruces investigados, excepto la raza española: en ella la frecuencia del alelo Al^F es ligeramente superior. En la raza árabe ambas frecuencias son iguales.

Agrupando los caballos en ligeros (inglés, árabe y anglo-árabe) y pesados (bretón y cruce hispano-bretón) observamos que el porcentaje de heterocigotos es superior en los ligeros inglés y árabe, por lo que el porcentaje de homocigotos es menor. Consideramos que este dato podría servir como distinción entre los dos grupos.

Sistema Es-al. En el presente estudio se han detectado los productos correspondientes a tres alelos codominantes autosómicos: Es^F , Es^I y Es^S , tal como postulara Gahne (1966) y fuera corroborado por otros investigadores. La hipótesis de Gahne incluía un cuarto alelo (Es^O), recesivo, que determina la ausencia de actividad esterásica y que sólo se manifiesta en homocigosis. Este genotipo homocigoto no ha sido hallado. Tampoco se ha podido detectar en heterocigosis, ya que el método empleado y los medios disponibles no lo han permitido.

De los seis fenotipos posibles, excluido el de ausencia de actividad esterásica sólo hemos visto cuatro. Faltan FS y S en todas las muestras SI., en árabe, español, bretón e hispano-bretón; FI, en anglo-árabe; y F, en inglés, árabe y anglo-árabe. El fenotipo I no estaba presente en todas las razas y cruces.

Con respecto a las frecuencias génicas, el predominio del alelo Es^I , seguido del Es^F , está en perfecto acuerdo con los datos de Kaminski (1973) y gran número de investigadores de otros países.

La diferencia entre caballos ligeros y pesados se pone de manifiesto por la mayor frecuencia del alelo Es^I para ingleses, árabes y anglo-árabes (caballos ligeros), tal como describen Podliachouk y Kaminski (1972). Se deduce, por tanto, que algunos de los alelos de esterasa pueden proporcionar un adecuado marcador de raza.

Sistema Tf. En este estudio se han encontrado los productos correspondientes a los seis alelos con herencia codominante descritos por Braend y Stormont (1964). Sin embargo, no todos los alelos se dan en todas las razas y cruces estudiados. El alelo Tf^H no se presenta en la raza árabe, y el alelo Tf^R no se detecta en las razas árabe y bretona ni en el cruce anglo-árabe.

De los 21 fenotipos que encontró Hesselhot (1966), nosotros hemos descubierto 15. Los fenotipos DD, FF, y FM y FD aparecen en todas las razas y cruces. Los fenotipos MM, MO, MR, OO y OR no se vieron en ninguna de las muestras. Entre los fenotipos presentes en todas las razas y cruces investigados, los más frecuentes son DF y FF. Ambos predominan en los caballos ingleses y españoles.

Efectuando un estudio comparativo del reparto de alelos se observa que el alelo Tf^F es el que se presenta con mayor frecuencia, seguido del alelo Tf^D , mientras que las frecuencias menores corresponden a los alelos Tf^O y Tf^R ; lo que está de acuerdo con lo expuesto por Podliachouk, Kaminski y col. (1975).

Observamos también que el alelo Tf^R falta en los caballos árabes, mientras que en los ingleses se presenta en la misma tasa que el alelo Tf^O , lo que coincide con los datos de Kaminski (1965).

Separando los caballos en ligeros (inglés, árabe y anglo-árabe) y pesados (bretón y el cruce hispano-bretón), se observa que los alelos Tf^D y Tf^F son más frecuentes en los ligeros, mientras que el alelo Tf^H lo es más en los pesados, por lo que, de acuerdo con Kaminski (1965), podrían servir como marcadores para diferenciar ambos grupos.

VI. Resumen.

Se han estudiado los tipos de hemoglobina (Hb), albúmina (Al), esterasa-alcalina (Es-al) y transferrina (Tf) en 168 caballos pertenecientes a las razas inglesa, árabe, española y bretona y a los cruces anglo-árabe e hispano-bretón.

Han aparecido los tres tipos de hemoglobina (AA, Aa y aa) y predomina el tipo AA. El menos frecuente ha sido el aa, que sólo se presentó en un caballo español.

Se han encontrado los tres posibles fenotipos de albúminas (FF, FS, y SS). El más abundante es el FS, seguido del SS; y el menos frecuente, el FF, el cual falta en los caballos ingleses. Como alelo más frecuente destaca el Al^S .

De los siete fenotipos posibles de esterasa alcalina (Gahne, 1966) se han descubierto cuatro (F, I, FI e IS). El fenotipo más frecuente ha sido el I, presente en todas las razas y cruces investigados. Como alelo menos frecuente figura el Es^I seguido del Es^F .

Se han revelado los seis alelos de transferrina descritos por Braend y Stormont (1964). El alelo más frecuente ha sido el Tf^F , seguido del Tf^D . De los 21 fenotipos posibles se vieron 15 (DD, DF, DH, DM, DO, DR, FF, FH, FM, FO, FR, HM, HO,

HR y RR). Los fenotipos más comunes son el DF y el FF. El más raro, el DR, que sólo se presentó en un caballo español.

Realizado el análisis de los datos creemos que se puede distinguir entre poblaciones ligeras y pesadas.

Teniendo en cuenta los resultados de las tablas de contingencia, al no encontrar asociación, a ningún nivel de significación entre razas y el polimorfismo de transferrina, que es, de los loci estudiados, el que mayor número de alelos presenta y, como consecuencia, el que mayor información podría aportar, no nos atrevemos a establecer ninguna afirmación categórica a partir de los resultados de los otros polimorfismos y preferimos esperar los resultados de los demás polimorfismos en estudio (Es-ácida y prealbúminas) y el conocimiento de las distintas genéticas.

VII. Summary.

Have been analysed haemoglobin (*Hb*), albumin (*Al*), esterase (*Es-al*) and transferrin (*Tf*) types of 168 horses belonging to thoroughbred (English), Arab, Spanish and Breton breeds and their cross-breeds English-Arab and Spanish-Breton.

We have found all the three haemoglobin types (*AA*, *Aa*, and *aa*); the most common was *AA* type. The lowest frequency was *aa*, it only appeared in one Spanish horse.

Have been found all the three albumin phenotypes (*FF*, *FS* and *SS*). The most common was *FS* phenotype, the least was *FF* which was absent from thoroughbred. The most common allele was *Al^S*.

Of the seven possible phenotypes of alkaline esterase (Gahne, 1966) have been found four (*F*, *I*, *FI* and *IS*). The most common was *I* phenotype, which was present in all the investigated breeds. The least common allele was *Es* followed by *Es^F*.

Have been discovered all the six transferrins alleles reported by Braend & Stormont (1964). The most common allele was *Tf*, followed by *Tf^D*. Of the twenty one possible phenotypes have been seen fifteen (*DD*, *DF*, *DH*, *DM*, *DR*, *FF*, *FM*, *FO*, *FR*, *HM*, *HO*, *HR*, and *RR*). The most common phenotypes were *DF* and *FF*; the most rare was *DR*, which only appeared in one Spanish horse.

Data's analysis accomplished, we think it is possible to differentiate between light and draught horses.

Taking into account results from contingency tables, we are unable to find association between breeds and polymorphism of transferrins (*Tf* locus display the greatest number of alleles and therefore it would provide the largest information), we don't dare to play any categorical affirmation from results of the others polymorphisms, and we prefer to wait for the results from polymorphism of acid esterase and prealbumins we are going to investigate and the values of genetic distances.

VIII. *Bibliografía.*

- Bengtsson, S., B. Gahne and J. Rendel, 1968.—Genetic studies on transferrins, albumins, prealbumins, and esterases in Swedish horses. *Acta Agr. Scand.* 18: 60-64.
- Braend, M. 1964.—Serum types of Norwegian horses. *Nord. Vet. Med.*, 16: 363-373.
- Braend, M. and C. Stormont, 1964.—Studies on haemoglobin and transferrin types of horses. *Nord. Vet.-Med.*, 16: 31-37.
- Braend, M., 1974.—Some blood polymorphisms in Norwegian horses. *Proc. XIVth Int. Conf. Anim. Blood Grps. Bioch. Polymorphism*, Davis, California.
- Buis, R. C. 1976.—Blood protein polymorphism in a population of Shetland ponies. *Proc. XVth Int. Conf. Anim. Blood Grps. Bioch. Polymorphism*, Dublin.
- Hesselhot, M., 1966.—Studies on blood and serum types of the Icelandic horses. *Acta Vet.-Scand.*, 7: 206-225.
- Kaminski, M. and L. Podliachouk, 1968.—Serum esterases in equidae. *Proc. XIth Eur. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorphism*. Warsaw.
- Kaminski, M., 1969.—Common and species-specific serum esterase of equidae. I. Horse and donkey. *Biochem. Biophys. Acta*, 191: 611-620.
- 1970.—Common and species-specific serum esterase of equidae. II. Horse, donkey, zebra and their hybrids. *Comp. Biochem. Physiol.* 35: 631-638.
- Kaminski, M., L. Podliachouk, M. Vandeplassche and O. Girard, 1970.—Variation of serum esterases in the horse. *ZBL. Vet.-Med., A.*, 17: 719-725.
- Kaminski, M., 1973.—Polymorphisme de transferrine et d'esterase chez le cheval. Repartition et frequences de alleles dans des races differents. *Detection electrophorétique des polymorphismes biochimiques chez les mamifères*. Editions du C. N. R. S.
- Kaminski, M. 1974.—Esterase phenotypes in horses. *Proc. XIVth Int. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorphism*, Davis, California.
- Kaminski, M., Y. Bouquet, A. Van de Weghe and L. Podliachouk, 1974.—Ontogénesis des marqueurs génétiques sanguins chez le cheval. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, 6: 195-210.
- Nishimura, T. and S. Watanabe, 1974.—Studies on the serum esterase isozymes in ponies. *Jor. Agr. Sci.*, 18: 231-237.

- Osterhoff, D. R., 1966.--Haemoglobin, transferrin and albumin types in equidae (horses, mules, donkeys and zebras). Proc. Xth Eur. Conf. Anim. Blood Grps. Bioch. Polymorphism, París, pp. 345-351.
- Osterhoff, D. R. and F. S. Ward-Cox, 1967.--A preliminary horse breed comparison with regard to haemoglobin and serum type polymorphism. Proc. South Africa Soc. Anim. Prod. pp. 218-223.
- Podliachouk, L. and M. Kaminski, 1972.--Studies on blood groups, esterases and transferrins in light and draught horses. Proc. XIIIth Eur. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorphism. Viena.
- Podliachouk, L., A. Ven de Weghe, Y. Bouquet, M. Kaminski and J. Zwolinski, 1975.--Marqueurs génétiques sanguins chez les chevaux de courses. Ann. Génét. Sél. Anim., 7: 339-355.
- Podliachouk, L., M. Kaminski, and Zwolinski, 1975.--Etude des marqueurs génétiques sanguins dans deux races de poneys de Pologne. Ann. Génét. Sél. Anim., 7: 167-180.
- Rodero, A., R. Garzón and F. J. Castejón, 1972.--Tipos hemoglobínicos en équidos. IX Jornadas Luso-Españolas de Genética.
- Rodero, A., R. Garzón and F. J. Castejón, 1973.--Contribución al polimorfismo bioquímico en équidos. X Jornadas Luso-Españolas de Genética.
- Salerno, A. and R. Sobrero, 1969.--Il polimorfismo delle albumine in tre tipi di zebu Somali. Estratto da Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie. Vol. 23.
- Sandberg, K., 1972.--A third allele in the horse albumin system. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet., 3: 207-210.
- Sandberg, K. and S. Bengtsson, 1972.--Polymorphism of haemoglobin and 6-phosphogluconate dehydrogenase in horse erythrocytes. Proc. XIIIth Eur. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorph., Budapest, 1970, pp. 527-531.
- Schleger, W. and P. Soos, 1970.--Serum transferrin and haemoglobin polymorphism in Lipizzaner horses. Proc. XIth Int. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorph. (Warsaw, 1968), pp. 447-480.
- Schmid, D. O., 1965.--Über den Hämoglobin-Polymorphismus beim Pferd. Z. f. Imm. Allergieforsch., 128: 499-503.
- Scott, A. M., 1970.--A single acid gel for the separation of albumins and transferrins in horses. Anim. Blood Grps. Biochem. Genet., 1: 253-254.

- Scott, A. M. 1970.—Improved separation of polymorphic esterases in horses, XIth Eur. Conf. Anim. Blood Grps. Biochem. Polymorph, The Hague, pp. 551-553.
- Stormont, C. and Y. Susuki, 1963.—Genetic control of albumin phenotypes in horses. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 114: 673-675.

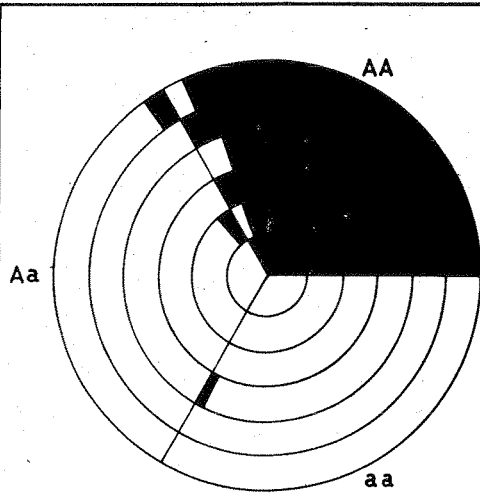


Fig. 1^o- Diagrama circular de los porcentajes fenotípicos de hemoglobina.

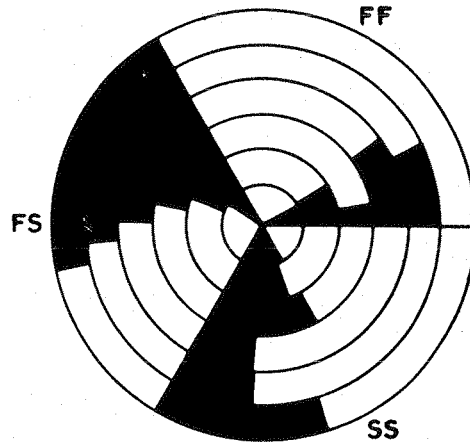


Fig. 2^o- Diagrama circular de los porcentajes fenotípicos de albúmina.

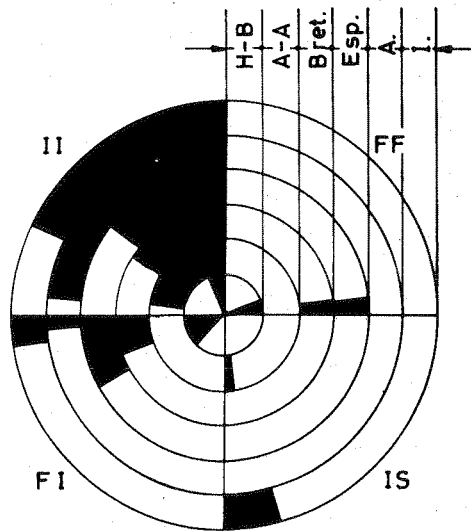


Fig. 3^o- Diagrama circular de los porcentajes fenotípicos de estera-alcalina.

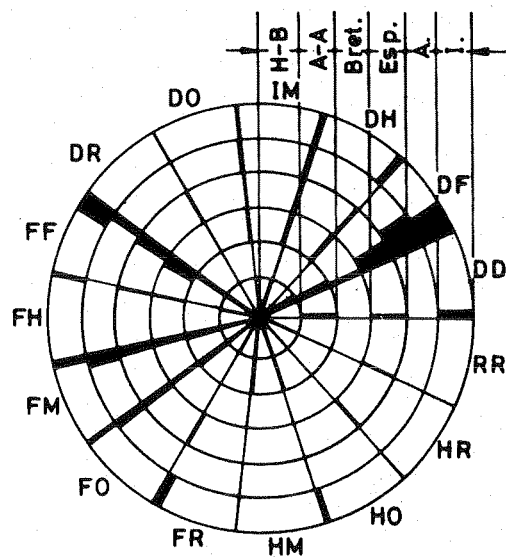


Fig. 4^o- Diagrama circular de los porcentajes fenotípicos de transferrina.

FIGURAS

- 1.^a Representación diagramática de hemoglobinas.
- 2.^a Representación diagramática de albúminas.
- 3.^a Representación diagramática de esterasa alcalina.
- 4.^a Representación diagramática de transferrinas.

De fuera adentro:

1. Inglés.
2. Árabe.
3. Español.
4. Bretón.
4. Anglo árabe.
6. Hispano-bretón.