

LAS TRANSFERRINAS COMO MARCADORES GENETICOS EN CABALLOS

(THE TRANSFERRINS AS GENETICS MARKER IN HORSE)

por

ANA ARIZA ARELLANO*

I. *Introducción.*

Las investigaciones actuales sobre polimorfismos bioquímicos integran la mayor parte del campo de la investigación genética y se basan en la distinta velocidad de migración de las proteínas plasmáticas sobre un medio soporte, como el gel de almidón.

Según la hipótesis dada por Braend y Stormont en 1964, existen en el *locus* transferrina seis alelos codominantes y cada alelo es responsable de dos bandas: una banda relativamente gruesa, seguida de una banda delgada. Los patrones de banda doble fueron llamados DD, FF, HH, MM, OO y RR y dieron nombre a los distintos homocigotos. Por convenio, los alelos fueron nombrados en orden decreciente de movilidad de bandas. Los alelos Tf^D, Tf^F, y Tf^H corresponden a las bandas más rápidas y los alelos Tf^M, Tf^O, y Tf^R, a las bandas más lentas.

II. *Revisión bibliográfica.*

C. G. Homberg y C. B. Laurell (1947) caracterizaron las betaglobulinas que pueden "atar" hierro y les dieron el nombre de transferrinas. Como sustancias que, específicamente, "atan" el hierro, las transferrinas tienen una función importante en el transporte del hierro humoral.

Según E. J. Cohn (1950), las betaglobulinas o transferrinas están integradas por proteínas que precipitan bajo concentraciones de hiposulfito sódico entre 30,5 y 44,2 p. 100 o superiores; y de sulfato sódico, de 15,75 a 27,2 g p. 100 o superiores.

* Laboratorio de Grupos Sanguíneos y polimorfismo bioquímico del Departamento de Genética. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba.

Recibido para publicación el 20-7-78.

ARIZA: LAS TRANSFERRINAS COMO MARCADORES GENETICOS EN CABALLOS

Según L. F. Bailey (1972) su punto isoeléctrico corresponde a pH entre 4,9 y 6,3. Poseen movilidad electroforética en gel de almidón, con tampón tris-cítrico a pH entre 7 y 8,5, y aún menor, a una temperatura de 4°C, y su peso molecular es de 90.000.

La molécula de transferrina contiene hidratos de carbono y está exenta de lípidos. Su función es el transporte y fijación de hierro y esta función es análoga a la de una reacción enzima-sustrato (C. W. Young y A. G. Hunter, 1966).

Las distintas variantes de transferrinas han aparecido en las electroforesis de zona mediante sistema discontinuo hechas por F. K. Kristjansson (1963), M. D. Poulik (1957 y 1958) y D. Smithies (1956 y 1959).

M. Braend y C. Stormont (1964) investigaron el sistema de transferrinas en familias de caballos ponis de las Islas Shetland, pura sangre, Arabes y Appalooses. Observaron seis alelos de transferrinas: Tf^D, Tf^F, Tf^H, Tf^M, Tf^O y Tf^R, con herencia codominante. Realizaron cálculos de frecuencias génicas para probar la validez de la hipótesis de los seis alelos con Puras sangres (americanos) y ponis de las Islas Shetland.

M. Hesselhot (1966), trabajando con caballos islandeses, encontró 21 fenotipos distintos de transferrinas, formados por combinación de seis alelos diferentes electroforéticamente, con los que dedujo que la síntesis de transferrinas en caballos está determinada por seis alelos, a los que designó con la nomenclatura propuesta por Braend y Stormont. También realizó cálculos de frecuencias génicas para comprobar la teoría.

B. Gahne (1966) encontró en los caballos de Salerno una subdivisión de Tf^F en Tf₁^F y Tf₂^F. La diferencia en la velocidad de migración entre ellas es tan pequeña que ningún investigador tiene en cuenta en investigaciones posteriores. Los tipos de transferrina que halló en este estudio los comparó con muestras de sangre de caballos noruegos clasificados por Braend. Con excepción de la subdivisión de la zona F, todos los demás patrones de transferrina estaban de acuerdo con los descritos por Braend y Stormont.

M. Kaminski (1965) llevó a cabo un estudio de las frecuencias transferrinas, indicando el reparto de los alelos. Llegó a las siguientes conclusiones: la banda M no se observa más que en los ponis; las frecuencias de las bandas O y R son, generalmente, pequeñas, mientras que la banda F es la que se encuentra más a menudo, seguida de la banda D. Agrupando los caballos en ligeros y pesados, se observa que la banda D es más frecuente en los primeros, lo mismo que la banda F. La banda H está claramente presente en los caballos de tiro, es la más frecuente en los caballos pesados, por lo que las bandas D y H podrían emplearse como *marcadores* para distinguir los dos grupos. También notó que el alelo Tf^R está ausente en diversas poblaciones de caballos árabes, mientras que está presente en la misma tasa que el alelo Tf^O entre los pura sangre.

ARIZA: LAS TRANSFERRINAS COMO MARCADORES GENÉTICOS EN CABALLOS.

L. Podlizchouk, M. Kaminski, A. Van de Neghe, Y. Bouquet y J. Zwinski (1975) hicieron una investigación sobre marcadores genéticos sanguíneos en los caballos de carreras, y observaron una débil frecuencia para los alelos Tf^O y Tf^R (este último, ausente por completo en los caballos árabes), mientras que los alelos Tf^D y Tf^F predominaban en todas las razas. Los fenotipos más frecuentes eran Df y F. El primero predominante en los pura sangre y árabes y el segundo, en los trotones. El alelo Tf^M no se ha encontrado en este estudio.

III. *Material y métodos.*

Se han analizado 169 muestras de sangre procedentes de caballos pertenecientes al 7.º Depósito de Sementales y a las Cuevas de la Condesa de Artaza (Córdoba).

Las muestras analizadas han sido: 40 caballos P. S., de los que 13 pertenecían al 7.º Depósito de Sementales y 27 a las Cuevas de la Condesa de Artaza. El resto de las muestras pertenecían todas al 7.º Depósito de Sementales y se distribuían del siguiente modo: 65 caballos de raza española, 18 caballos de raza árabe, 13 caballos bretones, 12 caballos cruzados anglo-árabes y 21 caballos cruzados hispano-bretones.

Para la separación de las distintas bandas de transferrinas se ha empleado el método electroforético sobre gel de almidón horizontal, descrito por Kristjansson (1963) y modificado por Efremov y Braend (1964). El tiempo de inserción de las muestras ha sido de media hora a 300 voltios. La intensidad de la corriente, una vez retiradas las muestras, era de 40 mA, manteniéndola así hasta el final de la electroforesis, con un corrido aproximado de 7 cm. El tiempo de electroforesis era de tres horas.

IV. *Resultados.*

De los seis alelos de transferrinas descritos, se han encontrado todos. El alelo Tf^H no se halló en los caballos árabes. El alelo Tf^R no se vió en las muestras de sangre procedentes de caballos árabes, bretones y anglo-árabes.

En algunos caballos de raza P. S. se ha observado una subdivisión de la banda correspondiente al alelo Tf^F en dos alelos diferentes, designados Tf₁^F y Tf₂^F, según B. Gahne (1966).

Los tipos de transferrinas encontrados se compararon con los obtenidos por Braend en muestras de sangre procedentes de caballos noruegos. Todos los patrones estaban de acuerdo con los descritos por Braend y Stormont en 1964.

De los 21 fenotipos posibles se han encontrado 15. La distribución de estos fenotipos se presenta en el cuadro I. El fenotipo más frecuente ha sido el DF, que se presentó en el 33,73 p.100 de los caballos investigados.

Las frecuencias génicas de los alelos se muestran en el cuadro II. Los diferentes porcentajes de homocigotos y heterocigotos se presentan en el cuadro III.

V. *Discusión.*

Comparando los datos obtenidos de las diversas muestras investigadas, observamos que:

--El alelo Tf^D tiene su mayor frecuencia (33,75 p. 100) en los caballos P. S.

--El alelo Tf^F presenta su mayor frecuencia (57,69 p. 100) en los caballos bretones, seguidos de los españoles, en los que se presentó con una frecuencia de 53,08 por 100.

--El alelo Tf^H tiene su más alta frecuencia en los caballos anglo-árabes (8,33 por 100). No se presenta en los caballos árabes.

--El alelo Tf^M presenta su mayor frecuencia en los caballos hispano-bretones (14,29 p. 100) seguido de los caballos anglo-árabes (12,5 p. 100).

--El alelo Tf^O tiene su mayor frecuencia en los caballos anglo-árabes (12,5 por 100).

--El alelo Tf^R presenta su mayor frecuencia en los caballos hispano-bretones (7,14 p. 100) y no presenta en los caballos árabes, bretones y anglo-árabes.

Haciendo un estudio comparado del reparto de los alelos, se observa que la banda F es la que se encuentra con mayor frecuencia, seguida de la banda D, mientras que las frecuencias de los alelos Tf^O y Tf^R son las más pequeñas.

Separando los caballos ligeros y pesados, observamos que los alelos Tf^D y Tf^F son más frecuentes en los caballos ligeros, mientras que la banda H es más frecuente en los pesados, por lo que, de acuerdo con lo expuesto por M. Kaminski en 1965, podrían servir como marcadores para distinguir los dos grupos. También se observa que el alelo Tf^R está ausente en los caballos árabes, mientras que está presente en los caballos P. S. en la misma tasa que el alelo Tf^O.

Los fenotipos más frecuentes son DF y FF. Predomina el primero en los caballos P. S. y españoles.

Comparando los distintos resultados de homocigosis y heterocigosis, se observa un predominio de heterocigotos en todos los casos; se presenta el mayor porcentaje en los caballos árabes (88,89 p. 100), seguidos de los hispano-bretones (85,71 p. 100). El porcentaje más bajo corresponde a los caballos bretones (61,54 p. 100).

El mayor porcentaje de homocigotos se da en los caballos bretones (38,46 por 100), seguido de los caballos P. S. (32,5 p. 100). El porcentaje más bajo corresponde a los caballos árabes (11,11 p. 100).

ARIZA: LAS TRANSFERRINAS COMO MARCADORES GENETICOS EN CABALLOS.

CUADRO I. DISTRIBUCION DE FENOTIPOS.

Razas y cruces	DD	DF	DH	DM	DO	DR	FF	FH	FM	FO	FR	HM	HO	HR	RR	TOTAL
P. S.	4	15	1	2	1	1	9	1	2	1	3		1			40
Arabe		9		1	1		2		3	2						18
Español	3	21	1	2	1	1	15	2	9	6	1			2	1	65
Bretón		1	1	1	1		5	1	2	1						13
Anglo-árabe	1	3					2	5	2	2	5	1	1			12
Hispano-bretón		8		1			2	1	4	1	1	1	1		1	21
	8	57	3	7	4	1	35	5	22	13	5	2	3	2	2	169

CUADRO II. FRECUENCIAS GENICAS.

Razas y cruces	FG _D	FG _F	FG _H	FG _M	FG _O	FG _R
P. S.	0,3375	0,5000	0,0375	0,5000	0,0375	0,0375
Arabe	0,3056	0,5000	0,0000	0,1111	0,0833	0,0000
Español	0,2462	0,5308	0,0385	0,0846	0,0538	0,0385
Bretón	0,1538	0,5769	0,0769	0,1154	0,0769	0,0000
Anglo-árabe	0,2083	0,4583	0,0833	0,1250	0,1250	0,0000
Hispano-bretón	0,2143	0,4524	0,0714	0,1429	0,0476	0,0714

CUADRO III. Porcentaje de homocigotos y heterocigotos en las distintas razas y cruces estudiados.

Razas y cruces	Homocigotos p. 100	Heterocigotos p. 100
P. S.	32,50	67,50
Arabe	11,11	88,89
Español	29,23	70,77
Bretón	38,46	61,54
Anglo-árabe	25,00	75,00
Hispano-Bretón	14,29	85,71

VI. Resumen.

1. Se han analizado 169 muestras de sangre procedentes de caballos del 7° Depósito de Sementales y de las Cuevas de la Condesa de Artaza (Córdoba), pertenecientes a las razas P. S., árabe, española, caballos bretones y algunos de sus cruces.

2. Para la obtención de las bandas de transferrina a partir del suero, se ha empleado el método electroforético sobre gel de almidón horizontal, descrito por Kristjansson (1963) y modificado por Efremov y Braend (1964).

3. Nuestra nomenclatura se ajusta a la dada por Braend y Stormont en 1964.

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

5. El fenotipo más común en todas las razas ha sido el DF, que se presentó en el 33,73 p. 100 de los caballos investigados, seguido del fenotipo FF que lo fue en el 20,71 p. 100 de ellos. El fenotipo menos frecuente ha sido el DR, que sólo se observó en un caballo español; y los fenotipos HM, HR y RR, que se detectaron en el 1,18 p. 100 de los casos.

6. Es posible la diferenciación entre poblaciones ligeras y pesadas por la mayor frecuencia de los alelos Tf^D y Tf^F en los ligeros, y del alelo Tf^H en los pesados.

7. Atribuimos a las transferrinas, junto con otros polimorfismos, un papel indiscutible en identificación animal, así como en la resolución de casos de paternidad dudosa.

VII. *Summary.*

1. Have been analysed 169 samples of horses blood, taken from the 7th Deposit of Studs and from Cuevas de Artaza of Cordoba. The horses belonged to English, Spanish, Arab and Bretons breeds and their various cross-breeds.

2. We have used the electrophoretic method on starch-gel horizontal, described by Kristjansson in 1963 and modified by Efremov and Braend in 1964, in order to obtain the transferrins bands from serum.

3. Our nomenclature is the same given by braend and Stormont in 1964.

4. Of the 21 possible phenotype we have found 15; three homocigotes (DD, FF and RR) and the rest heterocigotes (DF, DH, DM, DO, DR, FH, FM, FO, FR, HM, HO and HR).

5. The most common phenotype in all races has been the DF, with 33,73 p. 100 of the horses, then FF with a 20,71 p. 100. The less frequent phenotype found has been the DR which is only present in one horse of Spain breed. The HM, HR and RR phenotypes were observed in 1,18 p. 100 of the cases.

6. It is possible the differentiation between light populations and heavy populations by the higher frequency of allele Tf^D and Tf^F in the light ones and of allele Tf^H in the heavy ones.

7. Finally, we consider that transferrins, together with other polymorphisms, play an unquestionable part in animal identification and also in cases of doubtful paternity.

VIII. *Bibliografía.*

- Bailey, L. F. y C. A. Kiddy, 1972.--Resolution of cattle transferrins in starch-gel of pH 6,3. *Anim. Blood Group Biochem. Genet.*, 3: 4.
- Bengtson, S. B. Gahne y J. Rendel, 1968.--Genetic studies on transferrins, albumins, prealbumins and esterases in Swedish horses. *Acta Agr. Scand.*, 18: 60-64.
- Braend, M. y C. Stormont, 1964.--Studied on haemoglobin and transferrin types of horses. *Nord. Vet. Med.* 16: 31-37.
- Braend, M. 1964.--Serum types of Norwegian horses. *Nor. Vet. Med.* 16: 363-373.
- Cohn, E. J. 1950.--*Amer. Cheen. Soc.* 72: 765. Citado por J. Grass *Proteínas plasmáticas*. 3. Edición.
- Gahne, B. 1966.--Studies on the inheritance of electrophoretic forms of transferrins, albumins, prealbumins and plasma esterases of horses. *Genetics*, 53: 681-694.

ARIZA: LAS TRANSFERRINA COMO MARCADORES GENETICOS EN CABALLOS.

- Hesselhot, M. 1966.--Studies on blood and serum types of the Icelandic horses. *Acta Vet. Scand.* 7: 206-225.
- Holmberg, C. G. y C. B. Laurell, 1947.--*Acta Chem. Scand.* 1: 944.
- Kaminski, M. 1965.--Serum protein in equidae: species, race and individual differences. *Proc. 9th Europ. Anim. Blood Group Conf. Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.* 245-251.
- Kaminski, M.; Y. Bouquet; A. Van de Weghe y L. Podlizchouck, 1974.--Ontogénesis des marqueurs génétiques sanguins chez le cheval. *Ann. Génét. Sél. Anim.* 6: (2) 195-210.
- Kristjansson, F. K. 1963.--Genetic control of two prealbumins in pigs. *Genetics*, 48: 1059-1063.
- Osterhoff, D. R. 1966.--Haemoglobin, transferrin and albumin types in equidae (horses, mules, donkeys and zebras). *Proc. Xth Europ. Conf. Anim. Blood. Groups Bioch. Polymorph., París.* 345-351.
- Podlizchouk, L. y M. Kaminski, 1971.--Comparative investigations of equidae. A study of blood groups and serum proteins in a sample of *Equus przewalskii* Poliakov. *Anim. Blood Group Bioch. Genet.* 2: 239-242.
- Podliachouk, L.; A. Van de Weghe; Y. Bouquet; M. Kaminski y J. Zwolinski, 1975.--Marqueurs génétiques sanguins chez le chevaux de courses. *Ann. Génét. Sél. Anim.*
- Podlizchouk, L.; M. Kaminski y J. Zwolinski, 1975.--Etude des marqueurs génétiques sanguins dans deux races de Poneys de Pologne. *Ann. Génét. Sél. Anim.* 7 (2): 167-180.
- Poulik, M. D. 1957.--Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature (Lond.)*, 180: 1477-1479.
- Poulik, M. D. y D. Smithies, 1958.--Comparison and combination of the starch-gel and filter-paper electrophoretic methods applied to human sera: Two dimensional electrophoresis. *Biochem. J.* 68: 636-643.
- Schleger, W. y P. Sósos, 1974.--Serum transferrin and haemoglobin polymorphism in Lipizzaner horses. *Proc. 11th Int. Conf. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph. (Warsaw, 1968):* 477.
- Smithies, O. 1959.--Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum proteins. *Advance Protein Chem.* 14: 65-113.
- Smithies, O. y M. D. Polik, 1956.--Two-dimensional electrophoresis of serum proteins. *Nature*, 177: 1033.
- Young, C. W. y A. G. Hunter, 1966.--Transferrin polymorphism studies in Holstein Cattle. *J. Dairy Sci.*, 49: 375.