

NUEVOS FENOTIPOS DE TRANSFERRINA EN EL CIERVO COLA BLANCA AMERICANO (*)

Indalecio Rodolfo Quinteros (1) Wilmer J. Miller (2)

RESUMEN

Quince fenotipos de transferrinas fueron hallados en 88 muestras de plasma provenientes de ciervos "cola blanca" (white-tailed deer), utilizando un método electroforético modificado.

Siete presumibles tipos homocigotes, incluyendo aquellos descubiertos por un método anterior, indujeron a la predicción de 28 fenotipos.

Tres de estos 7 presumibles aleles, controlan un fenotipo de 2 bandas, 3 aleles controlan un fenotipo de 3 bandas y finalmente un alele que controla un fenotipo de 4 bandas.

Parece ser que los efectos de dosaje, se presentan más pronunciados en este material que en el trabajo anterior.

NEW TRANSFERRIN PHENOTYPES OF WHITE-TAILED DEER

SUMMARY

Fifteen transferrin phenotypes were disclosed with 88 samples of plasma from white-tailed deer by using a modification of an electrophoretic method. Seven presumed homozygous types, including those disclosed by an older method, lead to a prediction of 28 phenotypes. Three of the 7 presumed alleles controled a 2-band phenotype, 3 alleles controled a 3-band phenotype, and 1 allele controled a 4-band phenotype. Dosage effects seemed more prominent in this material than in previous work.

(*) Trabajo realizado en el Department of Genetics, Iowa State University, Ames, Iowa 50010, U. S. A. (1968). Entregado para su publicación el 1° de setiembre de 1969.

(1) Visiting Professor in Research de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, República Argentina, con una Beca otorgada por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina, para perfeccionamiento a realizar en el Department of Genetics, Iowa State University, AMES, U. S. A.

(2) Associate Professor, Department of Genetics, Iowa State University, Ames.

ANTECEDENTES

Los métodos electroforéticos que utilizan gel de almidón hidrolizado, para el estudio de ciertas fracciones proteicas del suero, incluidas las transferrinas, han sido ampliamente aceptados.

QUINTEROS y MILLER (1968) verificaron que las bandas componentes de los fenotipos de transferrina en bovinos, se separan con más claridad mediante la modificación que efectuaron a una de esas técnicas de taj manera que pudieron reconocer nuevas bandas, confirmando así las observaciones de STORMONT (1964) realizadas sobre bisontes que el cambio de una técnica puede revelar aspectos desconocidos de un fenotipo.

No obstante ello, la mayor resolución lograda por un método modificado, no requiere, o no significa que involucra cambios en las interpretaciones genéticas.

En el presente estudio, la técnica modificada se aplicó a muestras sanguíneas (plasma) conservadas a 20° C bajo cero, remanentes de la investigación realizada por MILLER *et al* (1965) sobre el ciervo de cola blanca, *Odocoileus virginianus*.

Esta investigación ha demostrado 3 presumibles tipos de transferrina, denominados en la oportunidad A, AC y C, donde el tipo A tenía 2 bandas, AC tenía 3 bandas y C poseía 2 bandas, siendo una banda común para todos los tipos.

Efectuada la comparación con las 3 bandas más veloces de bovinos (Smithies and Hickman, 1958), las 3 bandas de estas muestras de ciervo fueron similares en posición pero ligeramente más rápidas.

En ausencia de datos de pedigree, la aplicación de la ley de Hardy-Weinberg para establecer el equilibrio de las frecuencias génicas, prodigó una interpretación de 2 aleles que mostraban codominancia, representando el fenotipo AC al heterocigote.

La aplicación de la técnica modificada, ha descubierto nuevas bandas en las muestras de plasma de ciervo, las cuales no "encajan" en el modelo de 2 aleles.

El propósito de este trabajo es la descripción de nuevos fenotipos, y a la vez, proponer un mecanismo de control genético adecuado.

MATERIAL Y METODO

Mediante una modificación observada por QUINTEROS, *et al* (1964) y QUINTEROS and MILLER (1968) al método descrito por KRISTJANSSON (1963), fueron testadas 88 muestras de plasma provenientes de ciervo de cola blanca americano (*Odocoileus virginianus*).

En síntesis, la modificación incluye un aumento de la concentración del almidón, que alcanza al 15 %, y reducción a 6,8 del pH correspondiente al "buffer" utilizado en la elaboración del gel de almidón.

El gel es cubierto por un delgado film de material plástico (Saram Wrap, Dow Chemical Co.) a los efectos de prevenir su deshidratación,

dejando al descubierto las áreas de contacto terminales del mismo.

Pasados 15 minutos de iniciado el proceso electroforético a 165 voltios, se extraen los papeles de inserción del plasma, continuando de inmediato el pasaje de corriente durante otros 15 minutos y al mismo voltaje.

Posteriormente a este período, se eleva el voltaje a 350 voltios durante el resto de la corrida electroforética, colocando en este momento, un recipiente de metal (fondo plano) con hielo sobre la placa de almidón gelificada, con la finalidad de bajar la temperatura al pasaje de la corriente eléctrica, hasta finalizar el proceso.

Cuando la demarcación boratada ha llegado a una translación de 12 cm., a partir del punto de inserción, se suspende el paso de corriente, a la vez que se descubre la plancha de gel, para dividirla horizontalmente mediante un corte exactamente a la

altura de 3 milímetros, en toda su longitud. De inmediato se la tiñe durante 1 a 3 minutos con Buffalo black al 1%, y se destiñe con la solución de agua destilada, metanol y ácido acético glacial.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las bandas que aparecen en la zona de transferrina y las separaciones de las mismas en correspondencia a los diferentes fenotipos, son controladas por una transferrina tipo A de bovino, la que corre simultáneamente con las muestras de ciervo.

Las figuras 1 y 2, representan algunos fenotipos exhibidos en los geles de almidón.

El control "transferrina A" de bovino, aparece como el primero de la izquierda.

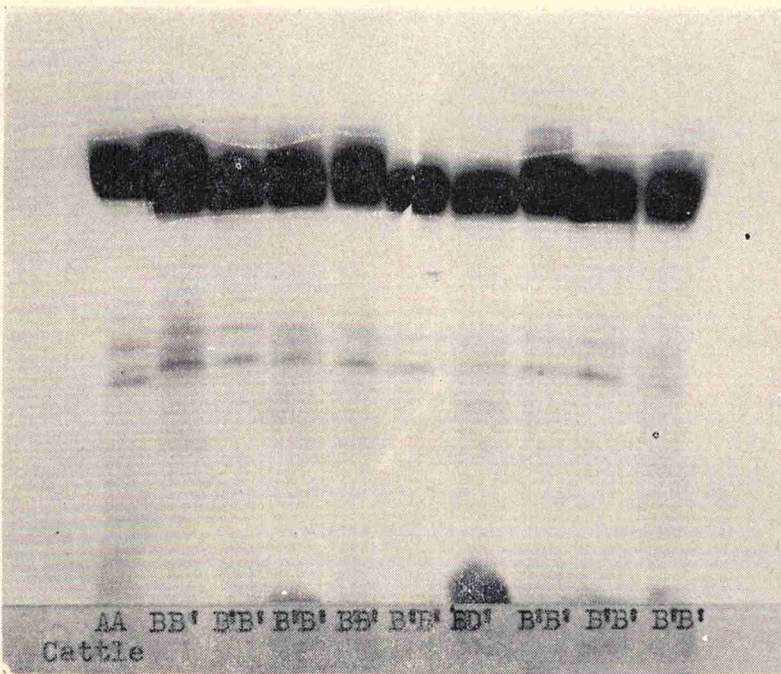


Fig. 1. — Fenotipos BB', B'E' y B'D', que en apariencia son los más frecuentes.

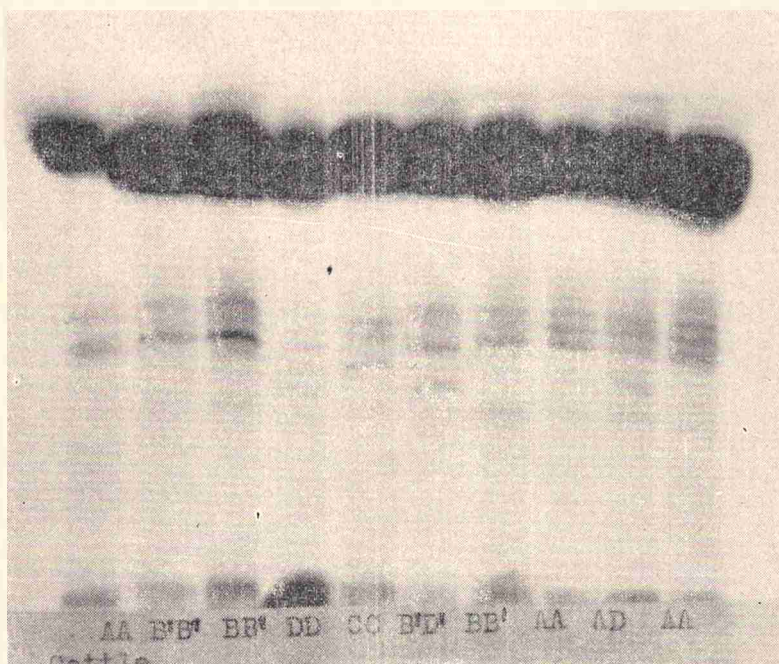


Fig. 2. — En las 88 muestras analizadas, se encontró en la zona de transferrinas, con el método modificado, un ordenamiento de 15 bandas, incluyendo los tres tipos ya conocidos (ver fig. 3). Los fenotipos incluyen combinaciones de 2, 3, 4, 5 y 6 bandas. Comparando las bandas correspondientes al tipo AA de ciervos con un control de transferrina A de bovino, se observa que la segunda banda del tipo A de ciervo sobrepasa ligeramente la banda más veloz del tipo A bovino, y la banda más lenta del mismo fenotipo en ciervo, aparece a un nivel ubicado entre la tercera y cuarta banda del mismo fenotipo bovino.

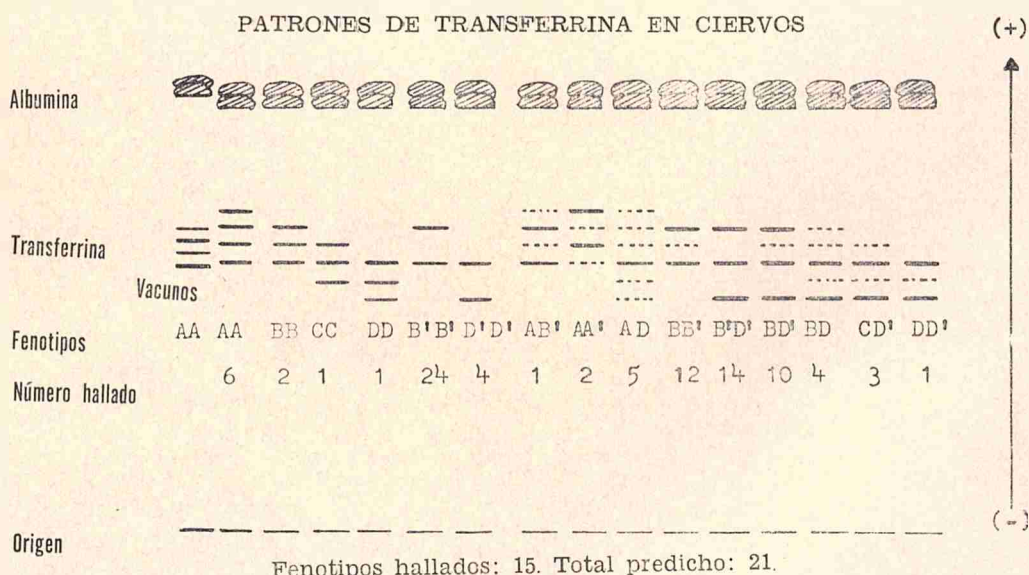


Fig. 3. — En 7 de estos fenotipos, cada una de las bandas componentes se presenta compacta e intensamente teñida. En nuestro caso, intentamos proponer una hipótesis inicial, referente a que las bandas débilmente teñidas, constituyen la resultante de heterocigosis (menor dosis aportada). De este modo, 6 de los 7 fenotipos de bandas compactas, probablemente representarían a tipos homocigóticos. Los otros 8 fenotipos incluyen una o más bandas débiles, con lo cual se estarían indicando las formas heterocigóticas.

Los 6 presumibles tipos homocigotes, implicarían 6 aleles, que concomitantemente estarían induciendo a una espectación de 21 fenotipos (considerando el control de codominancia usual para las transferrinas), y de acuerdo a la fórmula utilizada para las combinaciones de n aleles (de un sistema) en los cigotes,

$$\frac{n(n+1)}{2}$$

2

Si los efectos del "dosaje" génico se hacen presentes, es posible predecir una banda "pesada" cuando ambos aleles producen una banda común (doble dosaje) y una banda ligera en el caso de que solamente un alelo controla a la misma (dosaje simple).

Los fenotipos heterocigóticos esperados con este esquema concordaron con los datos obtenidos, pero con dos excepciones.

Si denominamos las bandas con A, B, C, D, E y F, como es la práctica usual, en el orden de mayor velocidad de translación hasta la de menor rapidez, observando la figura 3 de ciervos que continúan, pueden ser llamados A, B, C y D, respectivamente.

Pero, el quinto tipo tiene sólo 2 bandas (lo mismo que en el tipo previo A de Miller, *et al*, 1965), las cuales también están contenidas dentro de los tipos A o B, y, el sexto tipo (semejante al tipo previo C) tiene 2 bandas que igualmente están contenidas en el tipo D. Por lo tanto, nosotros las nombramos B' y D'.

El presunto tipo heterocigótico B'D', tiene 3 bandas gruesas, firmemente definidas. Es de hacer notar la alta frecuencia de este tipo excepcional, que probablemente representa al tipo previo AC, en el cual el efecto de "dosaje" (dosis) no fue evidente.

No debe sorprender que no fueran hallados todos los tipos heterocigóticos, cuya predicción se hizo en base a los fenotipos homocigotes, puesto que éste ha sido un examen más bien limitado.

De esta manera, nuestra investigación no detectó los tipos AB, AC, AD', B'C, DB', BC y CD. Por otra parte, es de suponer que tampoco hayan aparecido otros posibles fenotipos, cuya existencia podría ser probable con un mayor número de muestras.

Una excepción a la observación de que en todos los fenotipos, la cuarta banda, o sea la más lenta del tipo que denominamos AA es *potente* y *firme*, está dada por el tipo representado por AA', en el cual, la primera y tercera banda son fuertemente definidas, mientras que la segunda y cuarta son débiles.

Este tipo no es predecible a partir de los 6 aleles postulados, pero, si postulamos un séptimo alelo que controle dos bandas en el primero y tercer nivel (tipo A'), entonces si puede ajustarse el tipo AA' a una predicción basada en el dosaje. Para este último caso, por lo tanto, deberíamos hacer una predicción correspondiente a un total de 28 posibles genotipos.

Los resultados obtenidos de las 68 muestras de diferentes animales, fueron comparados con los obtenidos por el estudio de MILLER *et al* (1965).

El efecto "borroso" producido por la hemoglobina en la investigación de MILLER, no se produjo en nuestras experiencias trabajando con la nueva técnica.

Afortunadamente, los 5 tipos analizados anteriormente con dificultad y que entonces se los denominó C (Miller *et al*, 1965), estaban disponibles en esta segunda investigación.

De esta manera, en nuestros resultados actuales, fueron clasificados como D'D', 1CD' y 1BD'.

Todas las muestras al presente clasificadas como AA, BB, B'B, AA' y BB', fueron previamente del tipo A. Por el contrario, todos los tipos A anteriores, fueron incluidos en una de las clasificaciones recién mencionadas.

Los tipos que hemos tipificado como CC, DD, AD, BD, B'D', excepto 1BD' previamente pertenecían al tipo AC.

Por otra parte, 3 tipos adicionales anteriormente tipificados como AC,

ahora son clasificados como D'D' o CD'.

En general, la clasificación dada en 1965 en los tipos A, C y AC, puede ser considerada todavía válida, pero subdivisible por la nueva técnica.

La progresión de 2, 3 y 4 bandas controladas por aleles, no es imprecendente, puesto que la misma progresión ha sido postulada para chimpancés por BOYER y YOUNG (1960) y GOODMAN *et al* (1965).

BIBLIOGRAFIA

- Boyer, S. H. and Young, W. J.: Beta globulin polymorphism in Chimpanzees. *Nature, Lond.*, 187: 1035-36. 1960.
- Goodman, M.; Mc Bride, R.; Poulik, E. and Rekiya, E.: Serum transferrins in Oranges Park Chimpanzees colony classified by the Boyer and Young scheme. *Nature, Lond.*, 197: 259-61. 1963.
- Kristjansson, F. K.: Genetic control of two prealbumins in pigs. *Genetics*, 48: 1059-1063. 1963.
- Miller, W. J.; Haugen, A. O. and Roslien, D. J.: Natural variation in the blood proteins of white-tailed deer. *Journal of wildlife management*, 29: 717-723. 1965.
- Quinteros, I. R.; Stevens, R. W.; Stormont, C. and Asmundson, V. S.: Albumin phenotypes in turkeys. *Genetics*, 50: 579-582. 1964.
- Quinteros, I. R. and Miller, W. J.: An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. *Biochemical genetics* 2:213-218. 1968.
- Smithies, O. and Hickman, C. G.: Inherited variations in the serum proteins of cattle. *Genetics*, 43: 374-385. 1958.
- Stormont, C.: A. further comparison of bison and cattle transferrins. *Federation proceedings*, 23: 557. 1964.