

# ALGUNOS MARCADORES GENETICOS EN BOVINOS CRIOLLOS DE ARGENTINA . 2 . INMUNOGENETICA Y GRUPOS SEROGENETICOS (\*)

Dres. Indalecio Rodolfo Quinteros (1), Alberto Otto Muller (2),  
Eugenio Daniel Tejedor (3), Horacio García Valenti (4),  
y Jorge Raúl Bischoff (5)

## S U M A R I O

*Como apoyo complementario a la metodología de la Inmunogenética en investigaciones de grupos sanguíneos eritrocitarios, la Genética Bioquímica contribuye con varias líneas de trabajo, entre otras, la detección de Grupos Serogenéticos referidos a Transferrinas, Albúminas y Hemoglobinas. En este aspecto "genético bioquímico", se investigan en Bovinos Criollos de la Estación Experimental Agropecuaria Famaillá de Leales (I.N.T.A.), Tucumán, los fenotipos de Transferrinas, Albúminas y Hemoglobinas, llegando a comprobaciones iniciales de interés, por ejemplo, el alele Transferrina E ( $Tf^E$ ) no tiene ocurrencia en Criollos (en este primer estudio), el alele Albúmina S ( $Alb^S$ ) no aparece en homocigosis, y en Hemoglobinas se encuentra un franco predominio del alele  $Hb^A$  sobre  $Hb^B$ , con reducida frecuencia del genotipo homocigótico  $Hb^B/Hb^B$ , no observado por MILLER en Longhorns Americanos. Relativo a la conjunción de los trabajos 1 y 2 es de enfatizar las pautas de indagación sobre los sistemas de grupos sanguíneos y serogenéticos en la secuencia metodológica de la INMUNOGENETICA ANIMAL, recalcando su importancia como Ciencia Aplicada. La utilización de esta metodología de investigación puede contribuir a la certificación individual, fundamentalmente, para la estructuración de rodeos puros constitutivos de grandes reservorios génicos, a los efectos de mantener intacto y preservado ese gran patrimonio genético concerniente al Bovino Criollo, ya prácticamente en vías de extinción.*

(\*) Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, República Argentina.

(1) Profesor Titular, Cátedra Genética y Biometría. Director del Laboratorio de Inmunogenética Animal.

(2) Docente de la Cátedra de Genética y Biometría e Investigador.

(3) Docente Auxiliar, Cátedra Genética y Biometría. Investigador asistente.

(4) Docente Auxiliar, Cátedra Genética y Biometría. Investigador asistente.

(5) Docente Auxiliar, Cátedra Genética y Biometría. Investigador asistente.

Entregado para su publicación: 1973.

SOME GENETIC MARKERS IN CREOLE BOVINE  
OF ARGENTINA . 2 . INMUNOGENETICS  
AND SEROGENETIC GROUPS

S U M M A R Y

*As a complementary task to the Immunogenetics for the blood groups research, the Biochemical Genetics contributes with several work lines to detect the Serogenetic groups, example, Transferrins, Albumins and Hemoglobins. The investigation is performed in "Bovinos Criollos" of the Estación Experimental Agropecuaria Famaillá de Leales, (I.N.T.A.), Tucumán, researching the Transferrin, Albumin and Hemoglobin phenotypes. As a first result, in this study we have observed that the  $Tf^E$  does not occur in "Criollo", the alele  $Alb^S$  does not appear as homozygous and the Hemoglobin types gave the major frequency for the  $Hb^A$  with reduced frequency for the homozygous type  $Hb^B/Hb^B$ . The use of the Animal Immunogenetics with its methods can contribute to the cattle individual certification, fundamentally to structure the "Creole Bovine" herds as large reserves in order to maintain intact and preserved that great patrimony of genes concerning to the "Bovino Criollo" which practically is the way of extinction.*

A - TRANSFERRINAS

Las primeras comunicaciones sobre polimorfismo de transferrinas en bovinos, detectadas por electroforesis sobre almidón hidrolizado, fueron realizadas por SMITHIES y HICKMAN (1958) y ASHTON (1958), quienes describieron tres aleles en razas europeas.  $Tf^A$ ,  $Tf^D$  y  $Tf^E$ .

MAKARECHIAN y HOWELL (1966), comprobaron que en bovinos todas las bandas visualizadas con colorantes de proteínas en la región de transferrinas, eran transportadoras de hierro, lo que fué certificado por autorradiografía.

Estudios realizados en otras especies animales y hombre sobre proteínas transportadoras de hierro demostraron que las mismas son heterogéneas, y donde el "ácido siálico" es el máximo responsable de la heterogeneidad, con producción de dos

o tres bandas ((Williams, 1962; Baker et al., 1968; Stratil, 1970).

Aún cuando el problema de "subunidades" en transferrinas de bovino no se ha indagado adecuadamente, los resultados preliminares indican que las transferrinas de esta especie están representadas por una "única" cadena polipeptídica (Stratil and Spooner, 1971).

Investigaciones realizadas sobre transferrinas anormales (Spooner and Baxter, 1969), y transferrinas fetales (Spooner et al., 1970), sugieren que al menos tres locus diferentes controlan la biosíntesis de esta fracción protéica en bovinos.

Básicamente, se considera la existencia de "un locus responsable" para la síntesis de la cadena polipeptídica ( $Tf_p$ ) siendo  $Tf^A$ ,  $Tf^{D1}$ ,  $Tf^{D2}$  y  $Tf^E$  las variantes genéticas

más comunes controladas por este locus (Stratil and Spooner, 1971).

STRATIL y SPOONER (1971), diferencian un posible "segundo locus" que controla el ordenamiento del ácido siálico en la cadena polipeptídica (Tf<sup>SA</sup>). Por otra parte, SPOONER y BAXTER (1971) inducen que la distribución normal de ácido siálico está controlada por un gene dominante Tf<sup>SSA</sup>, y el tipo anormal por un gene recesivo Tf<sup>SA</sup>.

STRATIL y SPOONER (1971), postulan un "tercer locus" para la formación de las llamadas bandas "b" (Tfx), argumentando que debe existir una "determinante genética" que ejerce su control, por cuánto las "bandas b" no aparecen en los primeros estadios de la vida fetal (Spooner et al., 1970).

Investigaciones recientes insinúan una revisión de la notación de trans-

ferrinas, sugiriendo que su síntesis y expresión se deben a ocho aleles que conforman la serie alélica Tf<sup>A1</sup>, Tf<sup>A2</sup>, Tf<sup>B</sup>, Tf<sup>D1</sup>, Tf<sup>D2</sup>, Tf<sup>F</sup>, Tf<sup>E</sup> y Tf<sup>G</sup>.

Los fenotipos de transferrinas de mayor diferenciación y sus combinaciones son A, AD<sub>1</sub>, AD<sub>2</sub>, AE, D<sub>1</sub>, D<sub>1</sub>D<sub>2</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>E y E. Cada tipo homocigote, en gel de almidón hidrolizado migra a la manera de cuatro "proteínas diferentes" (Ashton, 1959; Quinteros and Miller, 1968), exhibiendo los heterocigotes, combinaciones de cuatro tipos de bandas con distintas posiciones en la placa gelificada, de acuerdo a su movilidad electroforética.

Los aleles conocidos se comportan como "codominantes", vale decir, que cualquiera sea la combinación genotípica, normalmente siempre se expresan (Ashton, 1958; Smithies and Hickman, 1965).

## MATERIALES Y METODOS

Los fenotipos de transferrinas y albúminas de 82 Bovinos Criollos, fueron determinados por electroforesis horizontal sobre almidón hidrolizado, con algunas modificaciones al método descrito por KRISTJANSSON (1963) enunciadas por QUINTEROS et al. (1964), QUINTEROS y MULLER (1967) y QUINTEROS y MILLER (1968).

En síntesis, el método citado consiste en llevar la concentración de almidón (Connaught Medical Laboratory, Toronto) al 15 %, y a pH 6,8 el "buffer" utilizado para elaborar el gel de almidón

Efectuadas las siembras y transcurridos 15 minutos de iniciado el proceso electroforético a 165 voltios, se extraen los papeles usados en la inserción del plasma. De inmediato se continúa el pasaje de corriente durante otros 15 minutos, al mismo voltaje.

Seguidamente, el voltaje es elevado a 350, colocando en este momento, un recipiente de metal (fondo plano) con hielo sobre el gel de almidón, cuyo objeto es bajar la temperatura al pasaje de la corriente eléctrica, con enlentecimiento simultáneo en la migración de las fracciones protéicas. El frío se mantiene hasta finalizar el proceso.

Cuando la traslación de la demarcación boratada llega a los 12 cm, se suspende el paso de corriente. Mediante corte horizontal se divide la placa gelificada a una altura de tres milímetros, se la tiñe durante uno a tres minutos con Buffalo black al 1 % y finalmente se decolora con una solución compuesta por agua destilada, alcohol metílico y ácido acético glacial en las proporciones 3 : 3 : 1, respectivamente.

RESULTADOS

En Longhorns se han detectado los aleles Tf<sup>A</sup>, Tf<sup>D</sup> y Tf<sup>E</sup>, pero con distintas frecuencias en relación a los

dos rodeos analizados por MILLER (CUADRO 1).

CUADRO 1

FRECUENCIAS ALELICAS DE TRANSFERRINAS EN DOS RODEOS DE LONGHORNS AMERICANOS (Miller, 1966)

Ganado de Niobrara		Ganado de Wichita Mountains, Oklahoma	
Alele	Frecuencia	Alele	Frecuencia
Tf <sup>A</sup>	.20	Tf <sup>A</sup>	.40
Tf <sup>D</sup>	.77	Tf <sup>D</sup>	.53
Tf <sup>E</sup>	.03	Tf <sup>E</sup>	.07

La frecuencia porcentual de los diferentes fonotipos de transferrinas en las 82 muestras de Bovinos Criollos,

están expresadas en el CUADRO 2.

CUADRO 2

FRECUENCIA ALELICA DE Tf<sup>A</sup>, Tf<sup>D</sup><sub>1</sub> Y Tf<sup>D</sup><sub>2</sub>, EN 82 MUESTRAS EN BOVINOS CRIOLLOS

Fenotipo	Genotipo	Cantidad	Frecuencia alélica			
			Tf <sup>A</sup>	Tf <sup>D</sup> <sub>1</sub>	Tf <sup>D</sup> <sub>2</sub>	Total
AA	A/A	16	.4940			.4940
AD <sub>1</sub>	A/D <sub>1</sub>	38				
AD <sub>2</sub>	A/D <sub>2</sub>	11				
D <sub>1</sub> D <sub>1</sub>	D <sub>1</sub> /D <sub>1</sub>	5		.3110		.3110
D <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	D <sub>1</sub> /D <sub>2</sub>	3				
D <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> /D <sub>2</sub>	9			.1950	.1950
		82				1.0000

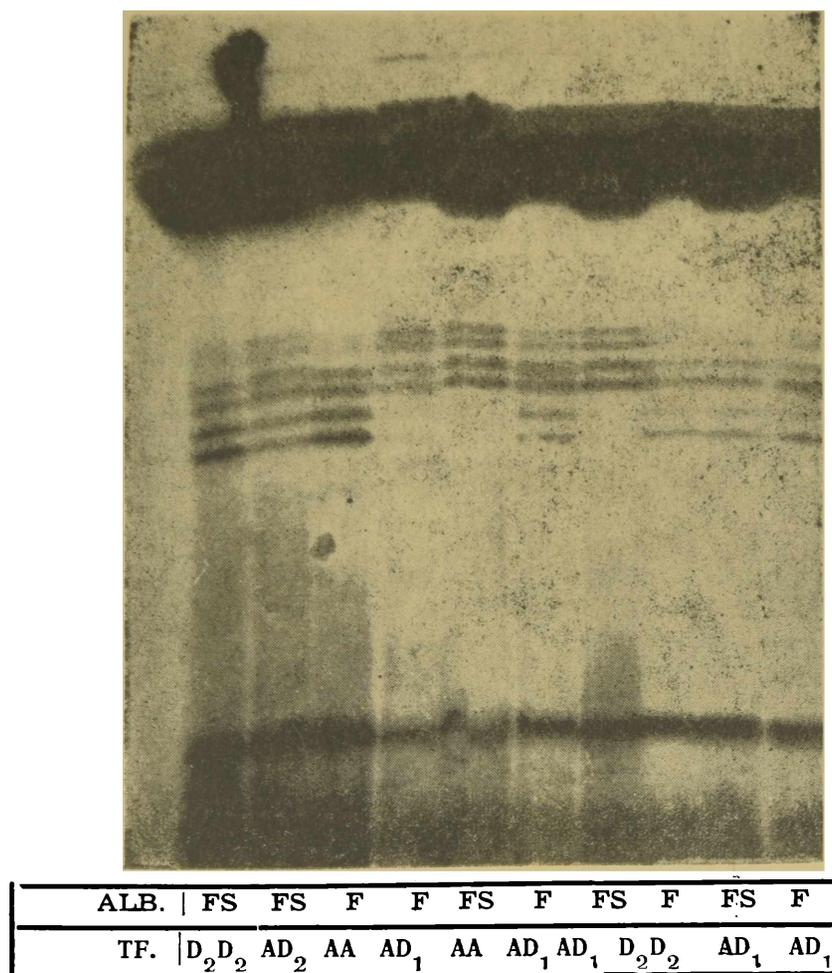
En el CUADRO 2, es aparente la mayor frecuencia del alele Tf<sup>A</sup>, aún cuando el genotipo heterocigótico A/D<sub>1</sub> supera en número a los otros genotipos de este "muestreo".

Otra observación importante es que el alele Tf<sup>E</sup> no aparece en esta pri-

mera indagación genética realizada en Bovinos Criollos.

La Figura 1 representa una corrida electroforética con 10 muestras diferentes, donde se observan los correspondientes fonotipos de transferrinas y albúminas.

FIGURA 1



Fenotipos de Transferrinas y Albúminas en 10 Bovinos Criollos

### B - ALBUMINAS

En un estudio comparativo diferencial de plasma bovino con otras especies llevado a cabo en DAVIS, CALIFORNIA, al investigar el posible polimorfismo en proteínas plasmáticas de Pavos (*Melleagris gallopavo* y *Melleagris ocellata*), se descubrió diferencias de migración electroforética en la región de Albúminas y como consecuencia, la presencia de tres fenotipos que fueron denominados A , B y AB , proponiéndose que dichos fenotipos eran controlados por un par de "aleles autosomales codominantes", Alb<sup>A</sup> y Alb<sup>B</sup> (Quinteros, Stevens, Stormont and Asmundson, 1964).

BRAEND y EFREMOV (1964, 1965 a), comunicaron el hallazgo de tres fenotipos de albúmina sérica en bovinos del Sud de Europa en base a dos aleles codominantes, que fueron denominados Alb<sup>F</sup> y Alb<sup>S</sup> (F = fast = rápida , S = slow = lenta).

ASHTON y LAMPKIN (1965), describieron el polimorfismo de las fracciones de Albúmina existentes en suero de Bovinos Africanos, con el descubrimiento de cinco fenotipos, por ocurrencia de tres aleles que denominaron Alb<sup>A</sup> , Alb<sup>B</sup> y Alb<sup>C</sup> .

## RESULTADOS

La técnica utilizada en la determinación de Albúminas en Bovinos Criollos es la misma que se emplea para transferrinas (Quinteros et al. 1964, 1967 y 1968), cuyos fenotipos se visualizan en las FIGURAS 1 y 3 .

El fenotipo F se caracteriza como una banda ancha y densa a la cuál precede una banda ligera.

El fenotipo FS , heterocigótico, detectado en Criollos, corresponde a la

combinación de una banda densa en posición F y otra banda más lenta en posición S , ambas precedidas de la banda ligera. S no aparece en homocigosis.

QUINTEROS y MILLER (1968, no publicado), observaron los mismos fenotipos F y FS en Longhorn Americano.

Las frecuencias observadas se dan en el CUADRO 3.

CUADRO 3

### FRECUENCIAS ALELICAS DE Alb<sup>F</sup> Y Alb<sup>S</sup> DETECTADAS EN BOVINOS CRIOLLOS DE LEALES

Genotipo	Cantidad	Frecuencia alélica		Total
		Alb <sup>F</sup>	Alb <sup>S</sup>	
F/F	61	.8720		.8720
F/S	21		.1280	.1280
Totales	82			1.0000

En este "muestreo", el CUADRO 3 revela evidente mayor frecuencia para el alele Alb<sup>F</sup> .

## C - HEMOGLOBINAS

SCHROEDER et al. (1967), describieron variantes en la estructura protéica primaria de las Hb<sup>A</sup> y Hb<sup>B</sup> .

La cadena "alfa" tiene 141 aminoácidos, y la cadena "beta" posee 145.

Las moléculas de cadenas "alfa" de Hb<sup>A</sup> y Hb<sup>B</sup> son idénticas, pero la cadena "beta" de Hb<sup>B</sup> difiere de Hb<sup>A</sup> en tres lugares o "sitios" (posiciones 15 , 18 y 119) donde los aminoácidos identificados son Glisina, Lisina, y en Hb<sup>B</sup> Serina, Histidina

y Asparagina, respectivamente (Braend, 1971).

Se presume que cada cadena polipeptídica está gobernada por un locus, habiendo acuerdo en que la variación ocurrida en Hb<sup>A</sup> y Hb<sup>B</sup> se controla por el locus para la cadena "beta".

La variación correspondiente a las moléculas de Hb<sup>C</sup> (Africa) y Hb<sup>D</sup> , probablemente también ocurre a nivel del locus para la cadena "beta" (Efremov and Braend, 1965).

EFREMOV y BRAEND (1965 a) y BRAEND et al. (1965), informaron sobre el descubrimiento de una variante que denominaron Hb<sup>D</sup>, de migración electroforética algo más lenta que Hb<sup>A</sup>. Recientemente, BRA-

END (1971) descubrió un nuevo tipo de Hb que denominó Hb C.

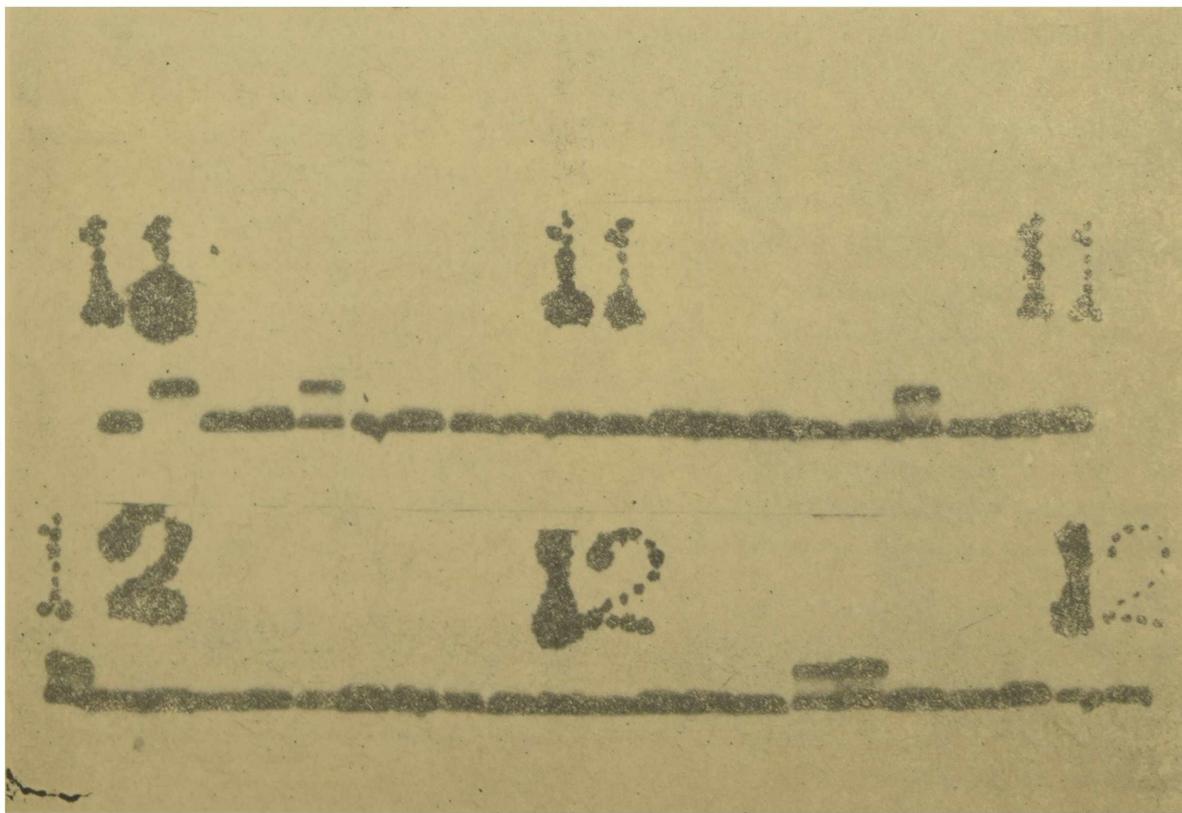
MILLER (1966), detectó en Longhorn Americano los tipos Hb A y Hb AB, pero no Hb B. STORMONT (comunicación personal, 1966), encontró en Longhorn el tipo Hb B.

## RESULTADOS

De acuerdo a sus comprobaciones, MILLER (1966) presume que la frecuencia génica de Hb B es de aproximadamente 30 % y la Hb A 70 %, en el ganado de Vichita. El tipo HbB; muy raro, lo considera cercano al 2%, en el ganado de Niobrara.

En Bovinos Criollos (Figura 2), se diferencian los fonotipos Hb A, Hb B y Hb AB, cuyas frecuencias alélicas porcentuales se discriminan en el CUADRO 4.

FIGURA 2



CUADRO 4

FRECUENCIAS ALELICAS DE LOS FENOTIPOS Hb A, Hb B Y Hb AB, EN BOVINOS CRIOLLOS DE LEALES

Fenotipo	Genotipo	Cantidad	Frecuencia alélica		Total
			HbA	HbB	
AA	A/A	70	.9146		.9146
AB	A/B	10		.0853	.0853
BB	B/B	2			
Total		82			.9999

El alele Hb A demuestra evidente mayor frecuencia. En Criollos aparece, aún cuando en escaso número, Hb B en homocigosis.

La FIGURA 3 reproduce el PROTOCOLO de la FIGURA 1 de tipificación de grupos serogenéticos, correspondientes a 10 Bovinos Criollos tomados al azar.

FIGURA 3

PROTOCOLO No. 1 ESPECIE GANADO CRIOLLO BOVINOS FECHA 7 Marzo 1972

METODO K-Q 1. 10,30 Hs ... 165 vts ... 35 M.A.M.P.  
 STARCH-GEL al 15% 2. 10,05 ... 350 H<sub>2</sub>O ... 50  
 RAN. 12.5% 3. 13,00 ... 350 ... 24  
 4. ....  
 5. ....

OBS: .....

S U E R O	Nº	TRANSFERRINA	ALB	Hb	ALB
Criollo 132	D <sub>2</sub> D <sub>2</sub>			A	FS
69	AD <sub>1</sub>			A	FS
110	D <sub>2</sub> D <sub>2</sub>			AB	F
36	AD <sub>2</sub>			A	F
72	AA			A	FS
98	AD <sub>1</sub>			A	F
56	AA			A	FS
67	AD <sub>2</sub>			A	F
52	AD <sub>2</sub>			AB	FS
106	AD <sub>1</sub>			A	F

## DISCUSION - CONCLUSIONES

Para la investigación inicial de Marcadores Genéticos del Bovino Criollo, se utilizó como modelo comparativo al Longhorn Americano exhaustivamente estudiado por MILLER (1966), cuyos orígenes son exactamente los mismos que el del ganado criollo, expresándose ambas razas con iguales fenotipos exteriores tales como cornamenta, alzada, pelaje con los más variados y caprichosos colores, estructura corporal, etcétera.

Como aparente primera evidencia en correspondencia a los "marcadores serogenéticos" o bioquímicos, en transferrinas se ha observado mayor frecuencia del alele Tf<sup>A</sup> (.4940), frecuencia intermedia del alele Tf<sup>D1</sup> (.3100) y menor frecuencia del alele Tf<sup>D2</sup> (.1950).

En Longhorn la mayor frecuencia corresponde al alele Tf<sup>D</sup> (sin discriminar D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>), apareciendo pequeño porcentaje de Tf<sup>E</sup>, de no ocurrencia en Criollos.

Referente a Albúminas, no estudiadas en Longhorn, la mayor frecuencia corresponde al alele Alb<sup>F</sup> (.8720), siendo evidentemente menor para el alele Alb<sup>S</sup> (.1280). El genotipo *Alb S/Alb S* (en homocigosis) no ha sido detectado.

También en Hemoglobinas hay notables diferencias de frecuencias génicas en favor del alele Hb<sup>A</sup> (.9146), con porcentaje reducido del genotipo heterocigótico Hb A/B y muy escasos genotipos homocigóticos B. Este último no fue hallado por MILLER en Longhorn, siendo detectado en reducido número por STORMONT en la misma raza.

## BIBLIOGRAFIA

- ASHTON, G. C.: *Genetics of beta-globulin polymorphism in British cattle*. Nature, 182:370, 1958.
- ASHTON, G. C.: *Beta-globulin alleles in Zebu cattle*. Nature, 194: 1145. 1959.
- BAKER, E.; SHAW, D. C. and MORGAN, E. H.: *Isolation and characterization of rabbit serum and milk transferrins. Evidence for difference in sialic acid content only*. Biochemistry 7: 1371, 1968.
- BRAEND, M. and EFREMOV, G.: *Proc. V. Int. Cong. Anim. Repr. and Art. Ins.* 7, 401, 1964.
- BRAEND, M. and EFREMOV, G.: *Polymorphism of cattle serum albumin*. Nord. Vet. Med. 17:585, 1965.
- BRAEND, M.: *Hemoglobin variants in cattle*. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 2:15, 1971.
- EFREHOV, G. and BRAEND, M.: *A new hemoglobin in cattle*. Acta Vet. Scand, 6:109, 1965. a.
- EFREMOV, G. and BRAEND, M.: *Differences in cattle globins*. Biochem. J. 97: 867. 1965, b.
- KRISTJANSSON, F. K.: *Genetic control of two pre-albumins in pigs*. Genetics, 48: 1059, 1963.
- KRISTJANSSON, F. K. and HICKMAN, C. G.: *Subdivision of the allele Tf<sup>D</sup> for transferrins in Holstein and Ayrshire cattle*. Genetics, 52:627. 1965.
- MAKARECHIAN, M. and HOWELL, W. E.: *Improved technique for separation and identification of bovine beta globulins by starch-gel electrophoresis*. Can. J. Biochem. Physiol, 44:1089, 1966.

- MILLER, W. J.: *Blood groups in Long-horn cattle*. Genetics, 54, 2:391, 1966.
- QUINTEROS, I. R.; STEVENS, R. W. C.; STORMONT, C. and ASMUNDSON, V. S.: *Albumin phenotypes in turkeys*. Genetics, 50:579, 1964.
- QUINTEROS, I. R. y MULLER, A. O.: *Grupos sanguíneos y fenotipos de albúmina, transferrina y hemoglobina en Equinos P. S. C. del Haras "La Tropilla"*. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata, 23:339, 1968.
- QUINTEROS, I. R. and MILLER, W. J.: *An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes*. Biochemical Genetics, 2:213, 1968.
- SCHROEDER, W. A.; SHELTON, J. R.; SHELTON, J. B.; ROBBERSSON, B. and BABIN, D. R.: *A comparison of amino acid sequences in the Beta chains of adult bovine hemoglobins A and B*. Archs. Biochem. Biophys, 120:124, 1967.
- SMITHIES, C. and HICKMAN, C. G.: *Inherited variations in the serum proteins of cattle*. Genetics, 43:374, 1958.
- SPOONER, R. L. and BAXTER, C.: *Abnormal expression of normal transferrin alleles in cattle*. Biochemical Genetics, 2:371, 1969.
- SPOONER, R. L.; LAND, R. B.; OLIVER, R. A. and STRATIL, A.: *Foetal and neonatal transferrins in cattle*. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 1:241, 1970.
- STORMONT, C.: *A further comparison of bison and cattle transferrins*. Federation Proceeding, 23:557, 1964.
- STRATIL, A.: *Studies on proteins of seminal fluid from the vasa deferentia of cock, Gallus gallus L.* Intern. J. Biochem, 1:728, 1970.
- STRATIL, A. and SPONNER, R. L. *Isolation and properties of individual components of cattle transferrins: The role of sialic acid*. Biochemical Genetics, 5:347, 1971.
- WILLAMS, J.: *A comparison of conalbumin and transferrin in the domestic fowl*. Biochem J, 83: 355, 1962.

Las fotografías expuestas en este trabajo, técnicamente exactas, fueron obtenidas por el Sr. JULIO BERMAN (Jefe del Departamento "AUDIOVISUALES" de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata), a quién, por cuya diligencia y permanente disposición para colaborar, agradecemos profundamente. También se hace extensivo nuestro enfático agradecimiento a los Ings. Zoot, F. SAL PAZ y O. A. RUIZ de la Estación Regional Agropecuaria Famaillá (I. N. T. A.), LEALES, TUCUMAN, por el material de investigación gentilmente cedido de sus reservas.