

S U M A R I O

SECCION I

Trabajos de Docentes de la Facultad

CAPITULO I

Temas de Investigación

	Pág.
Algunas transferrinas no comunes en bovinos	5
Transferrinas de peces del orden siluriformes	13
El hierro en la yema de los huevos de gallina. Su estudio con Fe ⁵⁹	21

CAPITULO II

Trabajos de Recopilación y Difusión

	Pág.
Inmunogenética. Semblanza conceptual. Significado e importancia	35

SECCION I

Trabajos de Docentes de la Facultad

CAPITULO I

Temas de Investigación

ALGUNAS TRANSFERRINAS NO COMUNES EN BOVINOS

INDALECIO R. QUINTEROS (1-4)

EUGENIO D. TEJEDOR (1)

WILMER J. MILLER (2)

RICARDO H. LARRAMENDY (3)

PRESENTADO EN LOS CONGRESOS:

- a) Séptimo Congreso Anual de la Sociedad Argentina de Genética (S.A.G.). Ushuaia, República Argentina, 12-17 de agosto de 1976.
- b) III Congreso Latinoamericano de Genética - Sociedad Latinoamericana de Genética - Montevideo, Uruguay, 6-12 de febrero de 1977.

RESUMEN

En un "muestreo" de 3.000 bovinos de distintas razas y mestizos provenientes de la Estación Experimental Agropecuaria de Balcarce (I.N.T.A.), (años 1970-1971), fueron detectados 10 fenotipos de Transferrinas "no-comunes" en esta especie animal. Uno de los fenotipos aparece con dos bandas proteicas lentas D_2 de las cuatro normales, constituyendo un tipo anormal de acuerdo con SPOONER Y BAXTER (1969). Estos autores refieren la acción de un gene epistático recesivo que afecta al ácido siálico vinculado a las dos bandas más veloces. Otros fenotipos se expresan con bandas agregadas y desplazamientos electroforéticos sobre gel de almidón hidrolizado, no coincidentes con los fenotipos conocidos. Frente a la inusitada rareza de los fenotipos observados, se decidió confirmar el hallazgo por marcación con Fe^{59} , demostrándose la veracidad del descubrimiento en vacunos de nuestro país.

SUMMARY

In a sample of 3.000 bovines of different breeds and half-breeds from the Estación Experimental Agropecuaria de Balcarce, I.N.T.A., (years 1970-1971), were detected 10 "not-common" Transferrin phenotypes in this animal species. One of the D_2 phenotypes appears with only two slow protein bands and not the four normal bands, constituting an abnormal type according with SPOONER AND BAXTER (1969). These authors refer the recessive epistatic gene action affecting the sialic acid binding to the two faster protein bands. Other phenotypes are expressed with aggregated bands and electrophoretic displacement on hydrolyzed starch gel not-coincident with the acquainted phenotypes. Because of the unusual rarity of the observed phenotypes, it was decided to confirm the finding with Fe^{59} added to every serum demonstrating the veracity of the discovery in bovines of our country.

(1) Instituto de Inmunogenética Animal y Genética, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, República Argentina.

(2) Department of Genetics, Iowa State University, Ames, Iowa 50010, U. S. A.

(3) Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

(4) Director del Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

Este trabajo se realizó con la vigencia de subsidios otorgados por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (C.O.N.I.C.E.T.), Comisión Administradora del Fondo de Promoción de la Tecnología Agropecuaria (C.A.F.P.T.A.) y la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires, República Argentina.

INTRODUCCION

El interés fundamental de la presentación de este trabajo, es informar acerca del hallazgo de varios fenotipos de transferrinas no comunes, detectados en un amplio muestreo de bovinos que comprendía distintas razas puras y mestizos, provenientes de la Estación Experimental Agropecuaria, I.N.T.A., Balcarce, las cuales fueron procesadas por los autores en el Laboratorio de Inmunogenética Animal de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Las muestras llegaron al laboratorio identificadas por un código numérico y letras, pero sin especificar proveniencia racial excepto algunos de los especímenes. En su conjunto, las razas utilizadas fueron Shorthorn, Hereford, Aberdeen Angus, Holando, Argentino, Fleckvieh Romagnola, etc.

Un ejemplo de suero con tipo anormal de Transferrina, ha sido descrito por GAHNE (1961) y otro tipo anormal de Transferrina detectado en bovinos indígenas de Piamonte fue publicado por SARTORE y BERNOCO (1966).

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

Los fenotipos de transferrinas en bovinos de mayor frecuencia y sus combinaciones son: A, AD₁, AD₂, AE, D₁, D₁D₂, D₂, D₁E, D₂E y E. En gel de almidón hidrolizado, cada tipo homocigótico 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.

Investigaciones recientes sugieren que la síntesis y expresión de las Transferrinas están controladas por ocho aleles, conformando la serie multialélica Tf^{A1}, Tf^{A2}, Tf^B, Tf^{D1}, Tf^{D2}, Tf^F, Tf^E y Tf^G (Quinteros, 1976).

En esta presentación se describen genotipos no frecuentes y anormalidades en Transferrinas, un tanto similares a las mencionadas por SARTORE y BERNOCO (1966) y las enunciadas por SPOONER y BAXTER (1966). Estos últimos autores inducen que en los casos de supresión de dos bandas proteicas, actúa un gene recesivo epistático que afecta al ácido siálico vinculado a las dos bandas más veloces de las cuatro controladas por cada alele de Transferrina, cuyo control se ejerce desde un locus independiente al locus de Transferrina.

MATERIALES Y METODOS

Los fenotipos de Transferrinas que se exponen fueron determinados por electroforesis horizontal sobre gel de almidón hidrolizado, con algunas modificaciones al método descrito por KRISTJANSSON (1963), enunciadas por QUINTEROS y MILLER (1968).

En la tipificación de un muestreo correspondiente a 3.000 animales bovinos diferentes vinculados a la Estación Experimental de Balcarce (I. N.T.A.), transportadas al Laboratorio de Inmunogenética Animal para su procesamiento, aparecieron fenotipos de Transferrinas "no comunes" y "anormales", que por ser de especial interés, obliga a exponer en este Congreso su descubrimiento. La muestra 9-185 A4 provino de un bovino Aberdeen-Angus y la de código F1 720 de un animal de raza Fleckvieh. Las demás estaban protocolizadas de acuerdo con el código con que fueron presentadas al Laboratorio de Investigación.

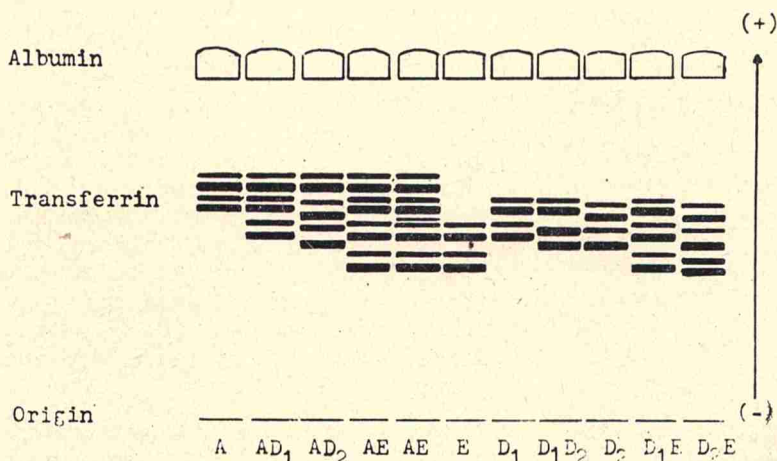
Frente a la inusitada rareza de los fenotipos aparecidos, se decidió confirmar por autorradiografía si las bandas aparecidas correspondían a fracciones proteicas de Transferrinas, para lo cual fue efectuada la marcación de cada muestra con Fe⁵⁹, en la proporción de 6 µ c/ml de suero problema, con incubación posterior a 37°C durante una hora. Efectuada la corrida electroforética, la tapa de 3 mm de espesor correspondiente al corte del total de la placa de gel de almidón hidrolizado y fijado con alcohol metílico, fue envuelta en bolsa de polietileno, colocando encima de la misma una película radiográfica Kodak durante 48 hs. SPOONER y BAXTER (1969) realizan la impresión de películas "Kodirex X-ray" a 4°C durante 16 horas.

Los resultados de la marcación fueron coincidentes con las bandas detectadas en el gel coloreado.

RESULTADOS

Previo a la presentación de los resultados, se hace necesario recordar los fenotipos normales de Transfe-

rrinas más frecuentes en bovinos (Figura 1).



PROTOCOLO Nº 207... ESPECIE. BOVINO..... FECHA 21. Julio. 1976.....

S U E R O	Nº	T R A N S F E R R I N A			Hb	ALS
Aberdeen Angus 9-185 A4	1					
51105	2					
Fleekvieh Fl 720	3					
50043	4					
1187	5					
50393	6					
1147	7					
556	8					
0245	9					
51090	10					

Figura 2: Descripción diagramática de los fenotipos y genotipos de Transferrinas detectados.

Bovino

Expresión fenotipo y genotípica de transferrinas

1. Código Nº 9-185 A4 En este individuo se destacan cuatro bandas netas del fenotipo A, precedidas de dos bandas tenues más veloces, transportadoras de hierro, confirmado por autorradiografía, expresándose con un fenotipo A fundamental definido de cuatro bandas más densas, precedido por dos bandas muy tenues más veloces agregadas. Aberdeen Angus.
2. Código Nº 51105 El fenotipo de esta muestra es expresado por dos bandas rápidas muy tenues en la misma posición que el fenotipo anterior, seguido de cuatro bandas densas que corresponden a TfA y las cuatro bandas correspondientes a TfE, pero de menor intensidad que las de posición A. Se conforma un genotipo de TfA/TfE precedido de dos bandas ligeras, con aparentes diferencias de dosis de cada uno de los componentes heterocigóticos y enlentecimiento de las bandas E.
3. Código Nº 720 Fenotipo de Tf-AD₂, con las dos bandas más rápidas de posición A extremadamente tenues, siendo densos los cuatro componentes proteicos restantes de este genotipo heterocigótico. Flekvieh.

*Bovino**Expresión feno y genotípica de transferrinas*

4. Código N° 50043 Corresponde a un genotipo heterocigótico TfD₁/TfE con la particularidad que las dos bandas proteicas más rápidas de posición D₁ son extremadamente tenues, las dos bandas lentas D₁ muy densas, y densidad evidentemente menor de las dos bandas en posición E.
5. Código N° 1187 Este curioso fenotipo anormal, está expresado sólo por las dos bandas más lentas del genotipo D₂. Los genotipos normales D₁D₁, D₁D₂ o D₂D₂ se expresan con cuatro bandas definidas. En este caso las dos bandas aparecidas son expresivamente densas. Hereford.
6. Código N° 50393 Este singular fenotipo "no común", de extrema rareza, está compuesto por ocho fracciones proteicas, cuyas cuatro bandas más veloces corresponden a la posición de las cuatro bandas del genotipo E, corriendo por detrás de E las cuatro bandas restantes. Las ocho bandas componentes, absolutamente definidas y visibles, son de densidad un tanto disminuida. Transitoriamente designamos a este genotipo como TfE/TfG, considerando la secuencia y número de bandas que corren detrás de E.
7. Código N° 1147 Este fenotipo se expresa con las seis bandas densas del genotipo heterocigótico TfA/TfD₂, pero precedido por las dos bandas muy tenues de los primeros fenotipos descritos en este trabajo.
8. Código N° 556 El fenotipo de este individuo aparece expresado con cinco bandas que corresponden al genotipo TfD₁/TfE, con la particularidad que la penúltima banda en posición E no aparece. En consecuencia, éste también es un tipo anormal.
9. Código N° 0245 Este fenotipo "no común" se expresa con cuatro bandas densas muy lentas, al que transitoriamente designamos como genotipo TfG/TfG homocigótico, en correspondencia a las cuatro bandas lentas del individuo N° 6 que hemos designado como TfE/TfG.
10. Código N° 51090 Fenotipo que se expresa con cuatro bandas de caprichosa ubicación, por lo cual presuponemos que corresponde a un genotipo anormal. Las dos bandas rápidas están ubicadas en posición de las dos bandas lentas del genotipo E, y las dos bandas lentas en posición de las dos bandas lentas del genotipo que hemos designado TfG, no expresándose las dos bandas rápidas de G que corresponderían a la estruc-

*Bovino**Expresión feno y genotípica de transferrinas*

turación del genotipo que transitoriamente podemos designar como TfF/TfG y que inferimos estaría constituido por seis fracciones proteicas, vale decir, en estado heterocigótico, cuyos componentes genotípicos podrían ser los siguientes: TfF, con dos bandas en posición de las dos bandas lentas del tipo E, que representarían las dos primeras bandas F, y dos bandas en posición de las dos bandas rápidas del tipo G, las cuales se acoplarían a las otras dos bandas de G que son las de mayor lentitud. Si la hipótesis concordara con la realidad, el fenotipo de este individuo estaría expresando un genotipo anormal, con las dos bandas proteicas intermedias suprimidas, (Figura 3).

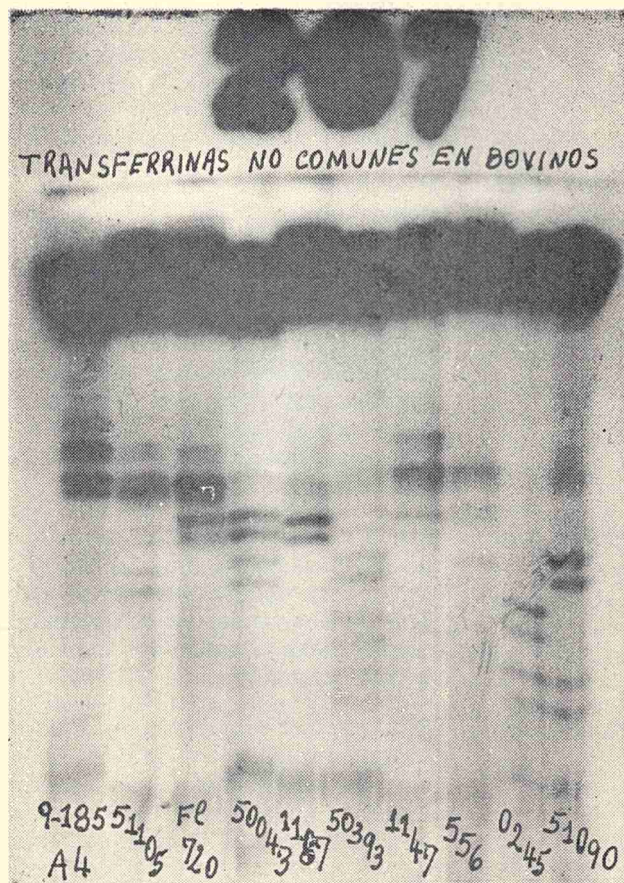


Figura 3: Fotografía de la tipificación en gel de almidón hidrolizado correspondiente al diagrama de la figura 2.

DISCUSION

Los tipos de Transferrinas del suero en bovinos detectados por electroforesis sobre almidón hidrolizado, muestran que la mayoría de los animales "encajan" en modelos definidos de cuatro, seis y ocho bandas de proteína por cada variante (Quinteros and Miller, 1968), aun cuando los cambios de técnicas utilizadas pueden modificar el fenotipo observado (Stormont, 1964).

En algunos animales se han comprobado variaciones fenotípicas expresadas con menor número de ban-

Spooner y Baxter (1969) describen siete casos de Transferrinas anormales en la raza Hereford, proponiendo que en esta anomalía las dos bandas proteicas que deben ser más veloces, aparentemente tienen igual movilidad que las dos bandas lentas del mismo genotipo, descubrimiento que fue realizado en los tipos Tf-A₂, Tf-D₁ y Tf-D₂.

En nuestro trabajo, la muestra 1187

(Hereford) aparece con sólo dos bandas muy densas en posición de las dos bandas lentas del genotipo TfD₂.

SPOONER Y BAXTER (1969), inducen que en este tipo de animales afectados, hay cantidad duplicada de transferrina en las dos bandas lentas expresadas.

Se ha demostrado que el tratamiento de Transferrina normal con "neuraminidasa", produce enlentecimiento solamente de las bandas rápidas, de igual manera a como se observa en los caso anormales, sugiriendo que los primeros residuos de ácido siálico removidos por la "neuraminidasa", están débilmente adheridos a las dos bandas proteicas rápidas de Transferrina, siendo su adhesión firme respecto de las dos bandas lentas (Spooner and Baxter, 1969). Usando "neuraminidasa" en tratamiento prolongado, produjeron enlentecimiento de las Transferrinas anormales Tf-A₂A₂ y Tf-D₁D₁ (de dos bandas), reapareciendo las cuatro

bandas comunes en correspondencia a los genotipos normales de Tf-A₂A₂ y Tf-D₁D₁. Estos resultados los llevaron a interpretar que en esas Transferrinas anormales las dos bandas más rápidas en gel de almidón, tienen movilidades iguales a las dos bandas más lentas, produciéndose el fenómeno porque carecen del "ácido siálico", que normalmente transportan estas particulares fracciones proteicas del suero. Como consecuencia, sugieren que los animales afectados son homocigóticos para un gene epistático recesivo ubicado en un locus distinto no ligado al locus de Transferrina, el cual afecta el "transporte y adherencia" del ácido siálico a las dos bandas más rápidas. Los mismos autores plantean el interrogante acerca de "cuál es la diferencia de ligamiento" del ácido siálico a las dos bandas lentas de Transferrinas, induciendo que la anomalía podría ocurrir con respecto a otras bandas y genotipos homocigóticos y heterocigóticos.

La muestra F1 720 se expresa como un fenotipo Tf-AD₂, con las dos bandas rápidas sumamente débiles y la misma particularidad se observa en la muestra 50043 con las dos bandas rápidas ligeramente perceptibles y menor dosis que lo normal respecto a las dos bandas finales. Los individuos 9-185 A4, 51105 y 1147, de fenotipos Tf-AA, Tf-AE y Tf-AD₂, expresan dos bandas muy finas, certificadas por autorradiografía, todas en la misma posición por arriba de las bandas que corresponden al alelo Tf^A. Las muestras 556 y 51090, aparentemente se expresan como fenotipos anormales, donde en cierta forma se cumpliría la sugerencia de SPOONER y BAXTER de que las anomalías podrían ocurrir en los distintos genotipos heterocigóticos y no solamente en las bandas más veloces visualizadas en la corrida electrofórica sobre gel de almidón. Para

nuestro caso, en el individuo 556 se observa la ausencia de la segunda banda lenta del genotipo TfD₁/TfE, y referente a la muestra 51090, la ausencia corresponde a las dos bandas rápidas del alele Tf^G de este genotipo que integrarían el genotipo transitoriamente designado como TfF/TfG.

Las muestras 50393 y 0245, las catalogamos como fenotipos "no comunes", desconociendo los autores si sus correspondiente genotipos ya han sido descubiertos anteriormente a esta presentación. El individuo 50393 de ocho bandas, representa un genotipo heterocigótico compuesto por los alelos Tf^E y Tf^G, conformando el genotipo que denominamos TfE/TfG y

finalmente la muestra 0245, que se expresa en homocigosis con cuatro bandas muy lentas, transitoriamente hemos designado como genotipo TfG/TfG.

Con este trabajo dejamos planteadas las pautas para continuar investigando la probable aparición de otras anomalías de transferrinas en bovinos, y también, lo concerniente al descubrimiento de nuevos genotipos tal como comunicamos en este Congreso referente a las Transferrinas que hemos denominado TfE/TfG, Tff/TfG (presupone la existencia del genotipo Tff/Tff) y TfG/TfG homocigótico.

BIBLIOGRAFIA

1. ASHTON, G. C. 1959. Beta globulin alleles in Zebu Cattle. *Nature*, 184: 1135.
2. GAHNE, B. 1961. Studies on transferrins in serum and milk of Swedish cattle. *Animal Prod.* 3:135.
3. KRISTJANSSON, F. K. 1963. Genetics control of two pre-albumins in pigs. *Genetics*, 48:1059.
4. MAKARECHIAN, M. and HOWELL, W. E. 1966. Improved technique for separation and identification of bovine beta globulins by starch gel electrophoresis. *Can. J. Biochem Physiol.* 44:1089.
5. QUINTEROS, I. R. and MILLER, W. J. 1968. An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. *Biochemical Genetics*, 2:213.
6. QUINTEROS, I. R. 1976. Estudio racial comparativo de marcadores genéticos en Bovinos Criollos. *Mendeliana* 1 (1976): 9.
7. SARTORE, G. and BERNOCO, D. 1966. Research on biochemical polymorphisms in the indigenous cattle of Piedmont. *Proc. Xth Eur. Congr. Anim. Blood Groups (Paris)*, 283.
8. SPOONER, R. L. and BAXTER, G. 1969. *Biochemical Genetics* 2:371.
9. STORMONT, C. 1964. A further comparison of bison and cattle transferrins. *Fed. Proc.* 23:557.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al señor Francisco ESPOSITO y Sra. Susana R. de COCONI, personal técnico del Instituto de Inmunogenética Animal y Genética, por su tarea de apoyo sin pausa, y al señor jefe del Servicio de MEDIOS AUDIOVISUALES de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata, D. Julio BERMAN, por su excelente contribución fotográfica.

TRANSFERRINAS DE PECES DEL ORDEN SILURIFORMES

EUGENIO D. TEJEDOR (1)

INDALECIO R. QUINTEROS (1-3)

WILMER J. MILLER (2)

PRESENTADO EN LOS CONGRESOS:

- a) *Séptimo Congreso Anual de la Sociedad Argentina de Genética (S.A.G.). Ushuaia, República Argentina, 12-17 de agosto de 1976.*
- b) *III Congreso Latinoamericano de Genética - Sociedad Latinoamericana de Genética. Montevideo, Uruguay, 6-12 de febrero, 1977.*

RESUMEN

Mediante electroforesis horizontal sobre gel de almidón hidrolizado se detectaron fenotipos de Transferrinas en peces de los géneros *Plecostomus* y *Luciopimelodus*, confirmando el resultado por marcación del plasma con Fe^{59} , de cada una de las fracciones proteicas expresadas en la corrida electroforética y posterior autorradiografía. Se infiere la posible importancia de la aplicación de marcadores genéticos en estudios ictiológicos.

SUMMARY

*By horizontal hydrolyzed starch gel electrophoresis were detected transferrin phenotypes in fishes of *Plecostomus* and *Lucio pimelodus* genus, which was confirmed marking the plasma with Fe^{59} and every one of the protein fractions expressed in the electrophoretic run and further autoradiography. It is inferred the possible importance of the application of genetic markers in ichthyological studies.*

(1) Instituto de Inmunogenética Animal y Genética, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

(2) Department of Genetics, Iowa State University, AMES, Iowa 50010, U. S. A.

(3) Director del Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

INTRODUCCION

Esta presentación forma parte de un trabajo sobre "Introducción al Estudio Inmunogenético en Peces" que abarca la investigación de peces argentinos de los órdenes Siluriforme, Characiforme, Mugiliforme y otros.

La importancia de la determinación de transferrinas en especies de peces de la cuenca Parano-Platense y su posible aplicación a distintos aspectos de estudios ictiológicos promueven la comunicación de este hallazgo en la primera etapa de nuestro trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Los ejemplares procesados fueron capturados con red de arrastre en la costa del Río de la Plata, en la zona de Los Talas, localidad de Berisso. Se ensayaron técnicas de sangría por punción cardíaca y seccionamiento transversal del pedúnculo caudal. La coagulación sanguínea se produjo a temperatura ambiente y el suero extraído fue centrifugado a 3.000 r.p.m., conservándolo a -20°C hasta su estudio.

El fraccionamiento proteico se realizó por electroforesis horizontal en gel de almidón hidrolizado (Starch hydrolyzed, Connaught Medical Research Laboratories, University of Toronto, TORONTO, CANADA), según el método enunciado por KRIST-JANSSON (1963), con la modificación de QUINTEROS Y MILLER (1968).

En la preparación del gel se utiliza solución buffer ácido cítrico - TRIS (Trihidroximetil amino metano) a PH 6.8. De un volumen total de 500 c.c. para dos geles, 110 c.c. se vierten en un Kitasato con 75 g de almidón, agitándose hasta lograr una suspensión homogénea. El resto se lleva a temperatura de 100°C , para volcarlo en el interior del recipiente mencionado, manteniendo la agitación. La gelificación es instantánea; las burbujas de aire se extraen conectando el Kitasato a bomba de vacío. De inmediato se vierte el contenido en un molde de 22,4 por 13 cm por 6 mm de profundidad, y se lo tapa con un vidrio plano, ejerciendo presión para

erradicar el excedente de gel. El marco con la placa gelificada madura durante 90 minutos a temperatura ambiente y 30 minutos a 4°C en refrigerador.

Las muestras de suero de los distintos ejemplares son preparadas embebando tiras de papel para electroforesis Watman de 8x6 mm; se escurren sobre papel absorbente para evitar difusión, y posteriormente son introducidos en un corte transversal que se practica en el gel a 4 cm de uno de los extremos. En cada placa de gel es posible procesar de 10 a 12 muestras simultaneamente.

La electroforesis se practica en posición horizontal. Los puentes entre el gel y el buffer de las fuentes se realizan mediante paños esponjas de celulosa (Mortimer C.). Los 15 primeros minutos son corridos a 165 V, al cabo de los cuales se extraen los papeles de siembra. Finalizado este periodo se mantiene el voltaje durante igual lapso, elevando luego a 350 voltios con aplicación de hielo sobre la placa de gel mediante un recipiente de fondo plano, hasta que el frente boratado alcance una distancia de 12 cm desde el corte de siembra. Interrumpido el proceso, el gel se corta longitudinalmente obteniendo dos láminas de 3 mm de espesor. La visualización de las proteínas se realiza por tinción con solución saturada de Buffalo Black N B R (Naftol Blue Black) en una mezcla de alcohol metílico 5 partes, agua destilada 5 par-

tes y ácido acético 1 parte. El exceso de colorante se extrae con la mencionada solución alcohol - agua - ácido acético, hasta lograr contraste satisfactorio. La confirmación de las

transferrinas detectadas se realizó por marcación con Fe^{59} .

La movilidad de las muestras y resolución de las corridas es analizado por comparación con un patrón bovino de genotipo TfA homocigótico.

RESULTADOS

En esta primera etapa se analizaron los sueros de ejemplares que superan las 15 especies de peces de la cuenca Parano-Platense, con resultados alentadores, destacándose un notable polimorfismo fenotípico intra-

específico en las fracciones del suero de Sábalo (*Prochilodus platensis*), Bagre Blanco (*Pimelodus albicans*), Bagre Amarillo (*Pimelodus clarias maculatus*) y otras especies.

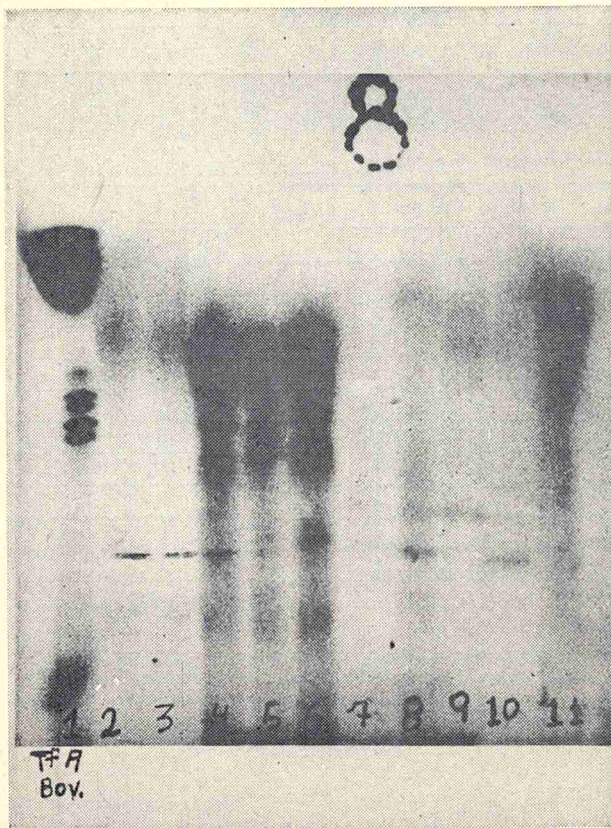


Figura 3: Corrida electroforética en gel de almidón hidrolizado. 1, patrón bovino TfAA, 2 a 5 Lucloplime-

Esta figura corresponde a una corrida electroforética de la especie *Luciopimelodus pati* (Patí). La muestra 1 es del patrón bovino TfA homogota; de 2 al 6 corresponde a Patí. Una banda de mayor velocidad común a las muestras 4, 5 y 6 se expresa a la misma altura que la 3ra. banda del Patrón bovino. Otra banda de movilidad menor, cercana a la gamma globulina bovina se detectó en las muestras 2, 3, 4 y 5.

Las muestras 7 a 11 inclusive, pertenecen a Bagre Blanco (*Pimelodus albicans*) las cuales no se incluyen en este trabajo. Los cinco ejemplares expuestos, juntamente con otros de la misma especie demuestran amplio polimorfismo intraespecífico.

La figura 2 corresponde al protocolo de interpretación de la figura 3.

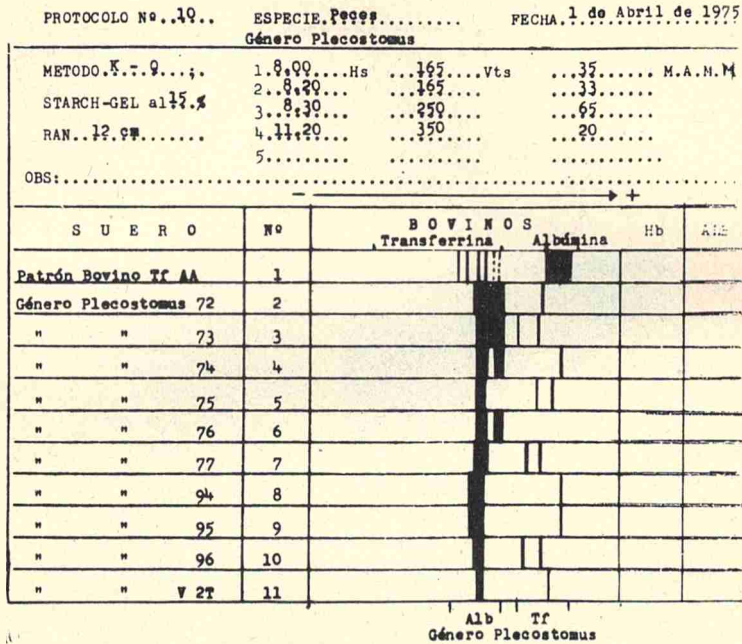


Figura 2: Protocolo e interpretación de la corrida electroforética de 10 muestras de peces del género *Plecostomus*. La figura 4 certifica por autorradiografía las fracciones proteicas transportadoras de hierro expresadas en la figura 3, usando como patrón TfAA bovino (figura 3).



hidrolizado, de 10 muestras del género *Plecostomus* y un patrón de Transferrina de Bovino (TfAA homocigótica).

Los especímenes pertenecen a 10 ejemplares del género *Plecostomus*, nombre vulgar Vieja de Agua, provenientes de muestreos generales donde la determinación sistemática sólo se realizó hasta clasificación de género. No obstante, en muestreos posteriores se diferenciaron las especies *Plecostomus commersoni* y *Plecostomus laplatae*, cuya diferenciación no se incluye en esta presentación.

El tratamiento específico de las 10 muestras permitió confirmar por autorradiografía 10 fracciones trans-

portadoras de hierro, cada una con movilidad diferente, ubicadas aproximadamente en un punto medio entre las albúminas rápidas o F de bovinos y las primeras bandas de TfA. Las muestras 3, 5, 7 y 10 expresan dos bandas y el resto solamente una.

Otras fracciones de menor velocidad, que corren por detrás de las fracciones transportadoras de Fe, se presentan francamente densas. Dadas sus características fenotípicas se induce que estarían constituidas por albúminas y alguna otra fracción que los autores aún no han clasificado.

DISCUSION

Los métodos inmunogenéticos de tipificación relativos a grupos sanguíneos eritrocitarios y grupos serogenéticos, estos últimos determinados por fraccionamiento de proteínas del suero y plasma mediante electrofo-

resis en gel de almidón hidrolizado, han sido aceptados como marcadores genéticos en diversos tipos de estudios biológicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos del estudio de las enzimas

Sorbitol-deshidrogenasas, se infiere la posible poliploidía en algunos miembros de la familia Cyprinidae (Engel et al., 1971). El polimorfismo intraespecífico fue ampliamente aplicado como método de estudio de poblaciones en diversas especies de peces, por ejemplo en Anguila (Drilhon et al., 1966), Salmón (Moller, 1970; Utter et al., 1970), Carpa (Creysell et al., 1966).

Relativo a otras especies de vertebrados se han descrito transferrinas en el ciervo Cola Blanca Americano (*Odocoileus virginianus*) y en el Venado Argentino (*Ozotoceros bezoarticus celer*) determinándose 9 fenotipos de transferrinas coincidentes entre ambas especies y 8 nuevos fenotipos propios de la especie argentina (Quinteros et al., 1969 y 1971).

Kidd y Perschner (1971), describen las posibles distancias y relaciones filogenéticas entre 10 razas bovinas austriacas e infieren movimientos migratorios en el continente europeo, en base al estudio de sus grupos sanguíneos.

Quinteros et al. (1974), estudiaron el Ganado Bovino Criollo de Argentina demostrando un 76% de coincidencia de sus grupos sanguíneos con la raza Longhorn Americano o Cornilargo, ambas razas originadas por el Ganado Andaluz y de Lidia, concordando estos datos con el registro histórico de su formación como raza.

Referente al género *Plecostomus*, en 10 muestras tomadas al azar se observaron 10 tipos de transferrinas de distinta velocidad electroforética, involucrando siete fenotipos diferentes.

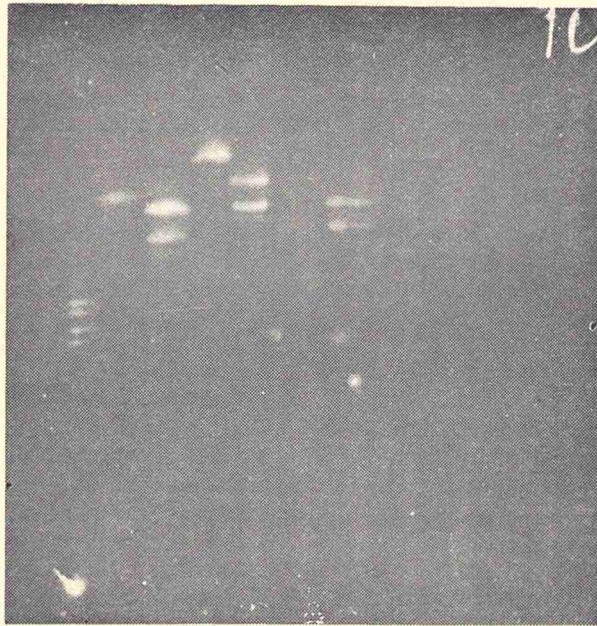


Figura 4: Autorradiografía de transferrinas detectadas. Corresponde a la figura 3.

Muestra 4, 8 y 9, con una sola banda rápida de transferrina, en posición de la Alb F de bovinos.

Muestra 5, se expresa con dos bandas, la más veloz en posición aproxi-

mada de Alb^S de bovinos, y la banda lenta en posición ligeramente más veloz que la banda rápida de la muestra 3 e inmediatamente inferior a la banda rápida de las muestras 7 y 10.

Muestra 11, una sola banda, en posición ligeramente inferior a Alb^S de bovinos.

Muestra 2, banda francamente densa, en posición algo inferior a la única banda de la muestra 11.

Muestra 7, dos bandas. Banda más veloz, en posición ligeramente por encima de la banda lenta de la muestra 5. Banda lenta, por encima del nivel de la banda lenta de la muestra 3 y ligeramente más veloz que la banda lenta de la muestra 10.

Muestra 10, dos bandas. La banda más rápida se expresa con igual velocidad que la banda rápida de la muestra 7, y la banda lenta en posición ligeramente inferior a la banda lenta de la muestra 7.

Muestra 3, dos bandas. La banda rápida en posición ligeramente inferior a la banda lenta de la muestra 5 y la banda lenta en posición inferior a la banda lenta de la muestra 7 y 10.

Referente a la muestra 6, no se logró la marcación radiactiva de la fracción proteica transportadora de hierro.

Debido al notable polimorfismo en transferrinas detectado en el género estudiado, y ante la evidente posibilidad de encontrar nuevas variantes de interés que amplíen el número de fenotipos observados, en este trabajo no se asignan símbolos a las fracciones de transferrinas detectadas.

Los autores de distintos países aceptan denominar transferrinas a las fracciones transportadoras de hierro, cuando el transporte es confirmado por autorradiografía en plasma y suero de peces. Jiménez et al. (1973), y Fine et al. (1970), tipifican las bandas proteicas con letras, diferenciando los tipos según su movilidad. Por otra parte, consideran homocigóticas a las muestras de una sola banda y heterocigóticas las de dos bandas.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al señor jefe del Servicio de Medios Audiovisuales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata, D. Julio BERMAN, por su excelente contribución fotográfica.

BIBLIOGRAFIA

1. CREYSELL, R., RICHARD, G. B. and SILBERZAHN, P. 1966. Transferrin variants in Carp serum. *Nature*, Lond. 212:1362.
2. DRILHON, A., FINE, J. M., BOFFA, G. A., AMOUCH, P. and DROUCHET, J. 1966. Les groupes de transferrine chez l'anguilla de l'Atlantique et les anguilles mediterraneennes. *C. R. Hebd. Seanc. Acad. Sci. Paris*, 262:1315-1318.
3. ENGEL, W., FAUST, J., and WOLF, U. 1971. Isoenzyme polymorphism of the Sorbitol dehydrogenase and the NADP Dependent isocitrate dehydrogenase in the fish family Cyprinidae. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 2:127-133.
4. FINE, J. M., DRILHON, A., MARNEUX, M., MAZEAUD, F. and AMOUCH, P. 1970. Polymorphism of transferrin in *Ictaurus melas*. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.* 1:235-240.
5. JIMÉNEZ, M. and PLANAS, J. 1973. Plasma proteins of the goosfish *Lophius piscatorius*. *J. Fish. Biol.* 5:125-130.
6. KIDD, K. and PIRCHNER, F. 1971. Genetic relationships of Austrian

- cattle breeds. Anim. Blood Grps. Genet. 2:145-158.
7. KRISTJANSSON, F. K. 1963. Genetics control of two pre-albumin in pigs. Genetics 48:1059-1063.
 8. MOLLER, D. 1970. Transferrin polymorphism in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). J. Fish Res. B. D. Can. 27:1617-1625.
 9. QUINTEROS, I. R. and MILLER, W. J. 1968. An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. Biochemical Genetic, 2:213.
 10. QUINTEROS, I. R. y MILLER, W. J. 1969. Nuevos fenotipos de transferrina en el Ciervo Cola Blanca Americano. *Analecta Veterinaria* 1 (3) : 93-98.
 11. QUINTEROS, I. R., MULLER, A. O., MILLER, W. J. y BISCHOFF, J. R. 1971. Fenotipos de transferrinas en el Venado Argentino (*Ozotoceros bezoarticus celer*). *Analecta Veterinaria* 3:107.
 12. QUINTEROS, I. R., MULLER, A. O., GARCÍA VALENTI, H., TEJEDOR, E. D. y BISCHOFF, J. R. 1974. Algunos marcadores genéticos en Bovinos Criollos de Argentina. I. Inmunogenética. *A.A.P.A.* 3:241-257.
 13. UTTER, F. M., AMES, W. E., and HODGINS, H. O. 1970. Transferrin polymorphism in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 27:2371-2373.

EL HIERRO EN LA YEMA DE LOS HUEVOS DE GALLINA. SU ESTUDIO CON Fe_{59}

EUSEBIA ANGULO (1)

LIDIA VISCIDO DE HERAS (2)

RAFAEL CELANI BARRY (3)

El presente trabajo es complementario de uno anterior sobre el metabolismo del hierro en gallinas ponedoras (1) y aquí se exponen los resultados referentes al contenido en hierro de las yemas de huevos y a la incorporación a las mismas de una parte del Fe_{59} inyectado, en función del tiempo.

RESUMEN

Al realizar estudios comparativos de la distribución del Fe_{59} en gallinas en postura de dos razas comunes en nuestro medio, se estudió especialmente la incorporación de dicho nucleído a la yema de los huevos, en función del tiempo.

Se emplearon diez gallinas Leghorn blancas de 1,9 Kg de peso promedio y diez Cornish-Plymouth de 3,5 Kg promedio. A cada ejemplar se le inyectó 20 micro Ci de Fe_{59} intramuscular y durante los 55 días siguientes se midió periódicamente la cantidad de dicho isótopo existente en el plasma, los hematíes y las yemas de los huevos, determinándose al mismo tiempo el contenido en hierro no radiactivo. La cantidad de Fe_{59} se midió con contador de pozo y por radioautografía.

En las yemas de la raza Leghorn se encontró, para yemas de 19,7 g, un promedio de $1,36 \pm 0,03$ mg de hierro no radiactivo y un máximo de Fe_{59} al 4º día, alcanzando al 8,59% de la dosis inyectada y decreciendo rápidamente.

En las yemas de Cornish-Plymouth el promedio de hierro fue de $1,25 \pm 0,04$ mg para yemas de 14,8 g y el máximo de Fe_{59} , observado también al 4º día, alcanzó al 3,48%.

Se utilizaron en total 148 yemas de Leghorn y 113 de C.-Plymouth para las distintas determinaciones.

Trabajo realizado en colaboración entre la Cátedra de Histología y la Sección Radioisótopos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

(1) Doctora en Ciencias Veterinarias. Profesora Titular de la Cátedra de Histología de la F. C. V. UNLP.

(2) Doctora en Química. Jefa de Trabajos Prácticos de la Sección Radioisótopos de la F. C. V. UNLP.

(3) Doctor en Medicina. Director de la Sección Radioisótopos y Profesor Titular de Análisis Clínicos de la Carrera de Bacteriólogo F. C. V. UNLP.

ABSTRACT

The incorporation of the Fe^{59} to the yolk in eggs laid by hens of two ordinary breeds in our country was studied as a function of time through comparative observations on the distribution of that radionuclide in laying hens of those breeds.

Ten white Leghorn and ten Cornish-Plymouth hens of 1,9 Kg and 3,5 Kg average weight respectively were studied. Each hen was injected via intramuscular with 20 microCi of Fe^{59} . During the following fifty five days the amount of that isotope present in plasma, red cells and egg yolks was regularly measured with a scintillation well-counter and by autoradiography. The concentrations of nonradioactive Fe were also determined.

In the Leghorn hens an amount of $1,36 \pm 0,03$ mg of nonradioactive Fe was found for yolks of 19,7 g average weight. As for Fe^{59} , a maximum of concentration was found on the 4th day with 8,59% of the injected dose; this value was observed to decrease rapidly.

In the Cornish-Plymouth hens $1,25 \pm 0,04$ mg nonradioactive Fe was found for each yolk of 14.8 g, and the maximum of concentration of Fe^{59} was 3,48% of the injected dose, also on the 4th day.

148 yolks of Leghorn and 113 of Cornish-Plymouth were used for the various determinations.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 10 gallinas Leghorn blancas de un peso promedio de 1,9 Kg y 10 Cornish-Plymouth de 3,9 Kg.

Se utilizó Fe^{59} en forma de citrato, inyectando 20 microcurios por animal en los músculos pectorales. Se empleó un testigo equivalente al 0,2% de la dosis inyectada.

Las yemas se procesaron en la siguiente forma: Abiertos los huevos y separadas las yemas, se absorbe con papel de filtro la albúmina adherida y se pesan. Luego se homogeniza cada yema con 7 ml de agua tridestilada, se mide el volumen total una vez desaparecida la espuma y se toma una alícuota de 3 ml para determinar su radiactividad en el contador de pozo, comparando con el testigo para calcular el porcentaje de la dosis inyectada transferida a la yema. De la misma muestra se toman 0,5 ml para determinar el contenido en hierro total empleando el método Ramsay para hierro en plasma (2). Para evitar contaminación

con hierro el material se lavó con HCl y agua tridestilada y la homogenización se hizo con un agitador de acrílico. Las lecturas se hicieron en un espectrofotómetro Zeiss PMQ 2 con fotomultiplicador y prisma de cuarzo, a 520 m μ y hendidura de 0,02 mm, previamente calibrado cuidadosamente con testigo de hierro. Las determinaciones de radiactividad se hicieron con el equipo "Nuclear Chicago" descrito anteriormente (1).

Autorradiografías

Los estudios autorradiográficos de los huevos se realizaron durante los 15 días siguientes a la inyección de Fe^{59} . No se sobrepasó este lapso por cuanto en los ensayos previos se había observado la desaparición virtual de la radiactividad en la yema en 2 semanas.

Los huevos reservados para este estudio se procesaban en la forma siguiente: Hervidos los huevos durante 10 minutos se pelan y se separa

la yema. Se corta un disco de la parte ecuatorial de 3 mm de espesor, que contenga el centro de la yema y el disco germinal. Estos discos se colocan, protegidos por una lámina de polietileno de 2 micrones de espesor, en contacto con películas radiográ-

ficas de tamaño adecuado. Para asegurar el contacto se prensan suavemente entre láminas de vidrio y se mantienen a 3°C en la oscuridad durante una semana. Se revelan con revelador de alto contraste tipo Kodak D-19.

RESULTADOS

Dada la variedad de tamaño y peso de los huevos, para normalizar los resultados expresándolos en forma comparable, se pesaron 104 yemas de Leghorn y 72 de C. Plymouth, obteniéndose los siguientes valores, previo tratamiento estadístico:

Peso promedio de gallinas

Leghorn	19,690 ± 0,194 g.
C. Plymouth	14,790 ± 0,236 g.

Contenido en hierro

El examen de 68 yemas de gallinas Leghorn dio un promedio estadístico de $1,362 \pm 0,027$ mg de hierro para yemas del peso mencionado (19,690). Corresponde esta cantidad a un promedio de 0,0691 mg Fe por gramo de yema.

Las yemas correspondientes a gallinas C. Plymouth dieron, como promedio de 46 determinaciones, un valor de $1,252 \pm 0,044$ mg de hierro para yemas de 14,790 g. Es decir un promedio de 0,0846 mg por gramo de yema.

Transferencia del hierro radioactivo

La aparición del Fe^{59} en las yemas es ya perceptible a las 24 horas aunque en proporciones mínimas; aumenta rápidamente y alcanza valores máximos entre el 3º y 5º día como puede observarse en las tablas 1 y 2. Se aprecia también que los valores correspondientes a yemas de Leghorn, en el periodo mencionado, son más altos alcanzando a 8,59% de la dosis inyectada mientras que en las C. Plymouth al 4º día alcanzan a 3,48%.

Las imágenes obtenidas por autorradiografías confirman estos datos y muestran además el fenómeno de la condensación aparente de la zona radiactiva. En la figura 1, correspondiente a yemas de Leghorn, se observa que la zona marginal de los días 3º a 5º es más radiactiva que las equivalentes de las C. Plymouth (figura 2). En las impresiones de los días sucesivos se observa en ambos casos el menor tamaño de la zona radiactiva.

No se han producido autorradiografías anteriores al tercer día ni posteriores al décimo por ser muy débil la zona activa.

DISCUSION

El ciclo acelerado del Fe^{59} observado en las gallinas estudiadas, coincide con lo hallado en el plasma y los hematíes (1) y demuestra la rá-

pida utilización del Fe^{59} en las gallinas en postura de las razas estudiadas.

El brusco descenso del Fe_{59} en el plasma, muy evidente entre el 3º y 5º día (1), concuerda con el aumento de actividad, medido y verificado por autorradiografía, en las yemas del 4º y 5º día y confirma la rapidez con que el hierro es incorporado a la yema en las gallinas en periodo de postura. Las imágenes autorradiográficas de las yemas muestran en ese lapso un intenso halo de actividad ubicado en la zona marginal de los cortes, evidenciando el depósito del nucleído en la zona periférica de las yemas que ya han alcanzado su tamaño normal. En cambio las imágenes correspondientes a los huevos que se hallaban en formación cuando se inyectó el Fe_{59} , muestran la ubicación del hierro en la zona periférica de una yema cuyo diámetro corresponde al desarrollo que en ese momento tenía el vitelo. Las capas

sucesivas, hasta alcanzar el tamaño normal de las yemas, denotan una actividad mínima no apreciable con el tiempo de exposición empleado. En algunos casos es muy evidente el plegamiento y deformación sufridas por la primitiva vesícula incluida en la yema madura, cuyos bordes no se distinguen en la imagen autorradiográfica.

La actividad radiactiva evidenciada por las autorradiografías es mayor en las yemas de gallinas Leghorn, lo que concuerda con los mayores valores de Fe_{59} medidos en el contador de pozo (8,59%). El dato es congruente con lo observado por Halkett y colaboradores (3) en gallinas Rock-Bantam de 1 Kg de peso, en cuyas yemas hallaron actividades de 17%. Parece haber una relación inversa entre peso del ave y transferencia del hierro a la yema en formación.

CONCLUSIONES

De los datos obtenidos en el presente trabajo puede deducirse lo siguiente:

- 1º Las yemas correspondientes a las gallinas más livianas (Leghorn) tienen un peso mayor que las pertenecientes a la raza Cornish-Plymouth. La relación peso yema/peso ave es de 0,1036 en las primeras y de 0,0379 en las segundas.
- 2º El contenido total de hierro no radiactivo encontrado en las yemas de Leghorn ($1,362 \pm 0,027$ mg) es mayor que en las de Cor-

nish - Plymouth ($1,252 \pm 0,044$ mg).

- 3º La cantidad de hierro por gramo de yema, por el contrario, es mayor en las C.-Plymouth que en las Leghorn (0,0846 mg y 0,0691 mg Fe/gramo yema respectivamente).
- 4º La cantidad de Fe_{59} que se incorpora a las yemas es máxima al 4º día; disminuye rápidamente y es mayor en las Leghorn (8,59%) que en las Cornish-Plymouth (3,48%).

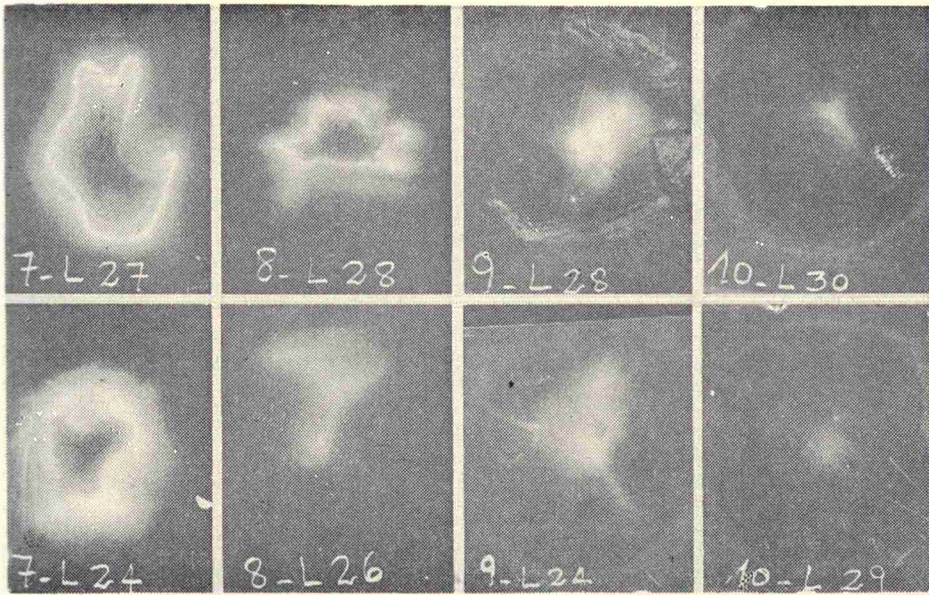
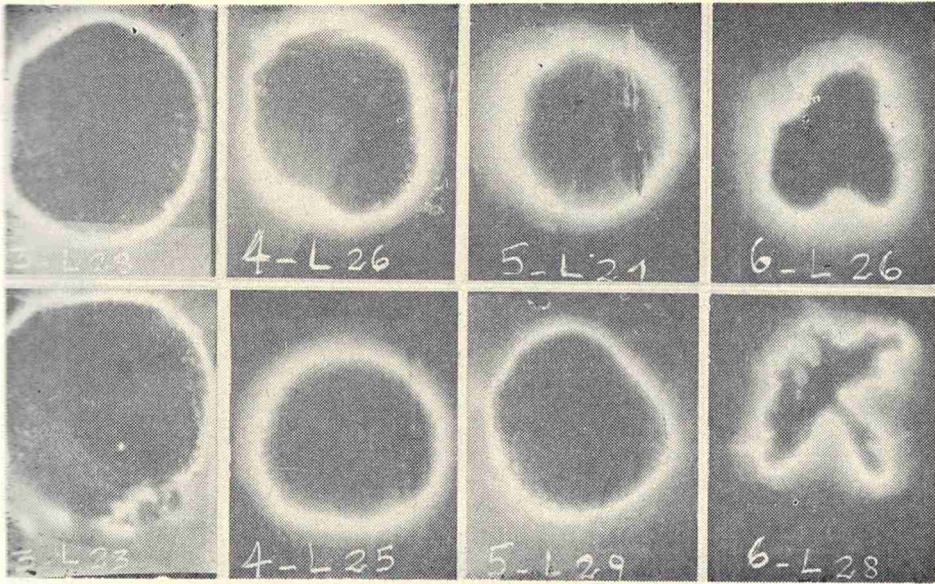


Figura 1: Autorradiografías de cortes de yemas de gallinas Leghorn (L). El primer número de cada imagen indica el día a partir de la inyección de Fe^{59} . El segundo número corresponde al ejemplar en estudio. Se han reproducido dos impresiones de cada día.

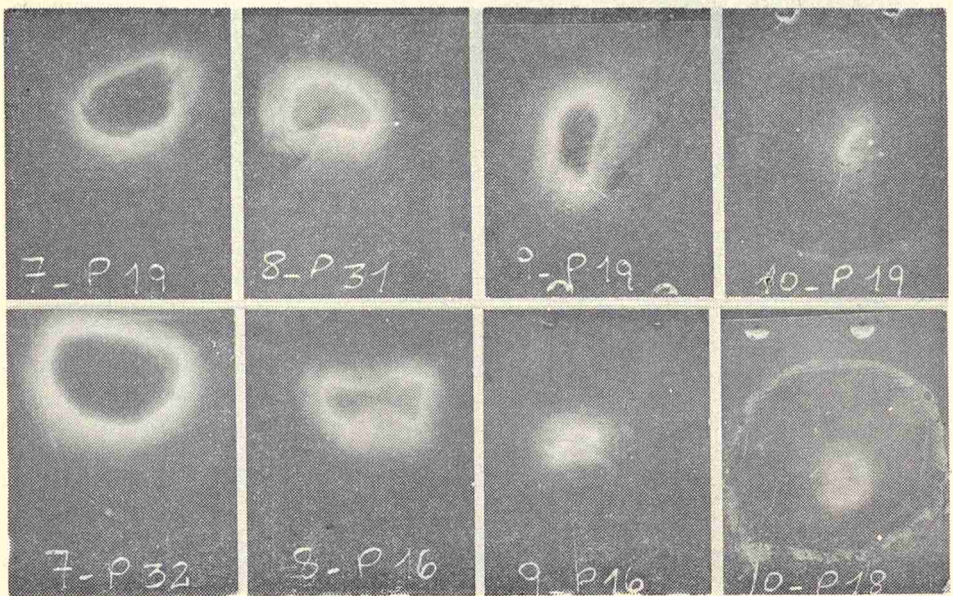
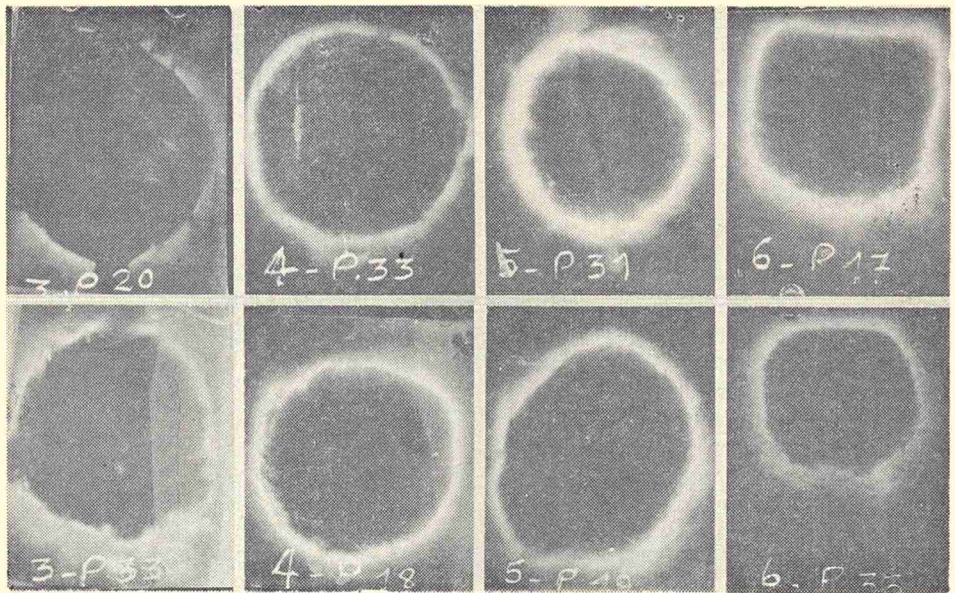


Figura 2: Autorradiografías de cortes de yemas de gallinas Cornish-Plymouth (P).
Los números tienen igual significado que en la figura anterior.

T A B L A I

Porcentaje del Fe-59 inyectado en gallinas Leghorn, determinado en las yemas en días sucesivos, referida a una yema promedio de 19,7 g.

Día N°	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	19
Gallina 21				3,76			1,06									0,38
22		7,41								0,71						
23	4,59			3,84	2,49								0,46			
24			4,68			1,71			0,75		0,57		0,51	0,39		
25	5,82		5,04			1,84		0,66		0,38		0,38	0,28	0,27		0,20
26	4,90		4,82					0,94		0,71						
27						1,81			0,80	0,58		0,65				
28	5,00									0,46	0,59					0,23
29		7,78														
30		8,59														

Día N°	20	21	22	23	25	27	28	29	32	34	36	38	40	41	43	45	57
Gallina 21	0,34				0,28		0,46		1,01	0,99							0,24
22						0,69											0,35
23	0,27					0,69					0,79	0,47					0,29
24	0,33					0,41			1,04	0,84				0,42			0,27
25		0,22			0,23							0,47			0,24		
26	0,31			0,42		0,32						0,73			0,45		
27		0,28					0,54				0,70						0,45
28	0,22		0,34			0,35		0,90					0,40	0,26			
29				0,64				0,95				0,44		0,41			
30			0,42										0,69				

T A B L A 3

Contenido de Fe (no radiactivo) en yemas de gallinas Leghorn, expresado en mg, referido a una yema promedio de 19,7 g.

Día N°	1	2	3	4	5	6	7	11	12	13	14	15	16	17	18
Gallina 21	1,22				1,95									1,43	
22		1,44						1,56		0,85					
23	1,29			1,16		1,25						1,17			
24	1,29					1,28					1,39				
25		1,29			1,56		1,85				1,45				
26		1,64			1,33						1,54				
27											1,44				
28										1,34					
29				1,81						1,52					
30		1,53		1,56						1,43					
44	1,26	1,40							1,37	1,56			1,37		1,54

Día N°	20	21	22	23	25	27	28	29	40	41	43	45	57
Gallina 21	1,43						1,25					1,32	
22	1,51					1,44				1,34			
23	1,07					1,11						0,81	
24	1,32					1,39				1,41			
25		0,88			1,33	1,62					1,28		
26	1,42					1,71					1,53		
27							1,25					1,00	
28	1,47					0,99			1,36	1,20			
29		1,62							1,43	1,26			
30			1,52									1,40	
44	1,13	1,31		1,16				0,94			1,53		1,23

T A B L A 4

Contenido de Fe (no radiactivo) en yemas de gallinas Cornish-Plymouth, expresado en mg, referido a una yema promedio de 14,8 g.

Día N°	1	3	4	5	6	7	8	13	14	15	17	20	22
Gallina	16	1,34		1,79									
	17	0,92		1,18			1,11			1,23		1,32	
	18			1,77			1,54		1,78			1,33	
	19				1,47			1,13				0,87	
	20		1,16			1,08			1,04			0,93	
	31		1,67										
	32		1,06					1,23					1,03
	33								1,66				
	34								1,40			1,48	

Día N°	23	27	28	29	32	41	43	45
Gallina	16	1,68	1,32				1,27	
	17			0,94		0,74		1,11
	18		1,46			1,46		
	19			0,98				0,87
	20			0,94		0,97		
	31							
	32			1,14			1,17	
	33				1,46		1,23	
	34	1,26			1,10		1,28	

AGRADECIMIENTOS

Para realizar este trabajo se contó con un subsidio acordado por C.A.F.P.T.A. a la profesora Dra. E. Angulo.

La C.N.E.A. suministró los radioisótopos a precio reducido, por convenio.

Los autores agradecen a la firma "Arbor Acres" las aves donadas, así como la colaboración prestada por su asesor científico, el profesor Dr. Rodolfo M. Perotti. Al establecimiento "Cargill" el suministro gratuito del alimento balanceado.

BIBLIOGRAFIA

1. CELANI BARRY, R.; VISCIDO DE HERAS, L.; ANGULO EUSEBIA. — "Algunos aspectos del metabolismo del hierro en gallinas en postura estudiadas mediante hierro radiactivo (Fe^{59}). Rev. Med. Vet. 56-195-1975.
2. RAMSAY, W. N. M. — "The determination of iron in blood plasma en serum". Clin. Chim. Acta 2-214-1957.
3. HALKETT, J. A. E.; PETERS, TH. JR.; ROSS, J. F. — "Studies on the deposition and nature of egg yolk iron". J. Biol. Chem. 231-187-1958.

SECCION I

Trabajos de Docentes de la Facultad

CAPITULO II

Trabajos de Recopilación y Difusión

INMUNOGENETICA. SEMBLANZA CONCEPTUAL. SIGNIFICADO E IMPORTANCIA

INDALECIO RODOLFO QUINTEROS (1,2)

Este trabajo fue elaborado durante la vigencia de un subsidio para 1976-1977, otorgado al Instituto de Inmunogenética Animal y Genética por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (C.O. N.I.C.E.T.) de Buenos Aires.

Originalmente, la INMUNOGENETICA nació en los Laboratorios de Genética de la Universidad de Wisconsin, en Madison, USA, en el año 1930, donde M. R. IRWIN realizaba sus trabajos experimentales con distintas especies animales, fundamentalmente con palomas y bovinos. La nueva rama científica surgió como conjunción de la GENETICA e INMUNOLOGIA. Bajo el patrocinio de M. R. IRWIN, esos laboratorios fueron la cuna de investigadores prominentes en Inmunogenética, de la talla gigantesca de Clyde Stormont, E. C. Ferguson, Ray Owen, Wilmer J. Miller, William Stone, Jan Rendel, Mikael Braend, etc., etc., maestros de la INMUNOGENETICA a nivel internacional, quienes han prodigado méritos permanentes a esta todavía no muy conocida rama de la Ciencia Genética.

El descubrimiento de variabilidad fenotípica en los Sistemas de Grupos Sanguíneos Eritrocitarios y Serogenéticos, en oportunidades han ocurrido sorpresivamente. Por ejemplo, el Sistema M-N del hombre (Landsteiner and Levine, 1928), durante aproximadamente 20 años, para todos los propósitos de tipificación fue observado como un Sistema

de dos factores sanguíneos (M y N), dos aleles (L^M y L^N) y tres fenotipos (M, MN y N), aun cuando se conocían variantes (N_2) del aglutinógeno N. Con el descubrimiento del factor sanguíneo S, (Walsh and Montgomery, 1947) el Sistema M-N-S-s, se ha expandido y convertido en polifenotípico o polimórfico, que involucra aproximadamente 30 aleles. El Sistema F-V bovino, desde su descubrimiento en 1943, constituyó una perfecta analogía (en especie infrahumana) del Sistema M-N del hombre. De esta manera, F-V apareció como un Sistema de dos factores (F^F y V), dos aleles (f^F y f^V) y tres fenotipos (F, FV y V), permaneciendo en esta condición durante 15 años (Stormont, 1952), con posterior expansión como ocurrió con M-N-S-s. Estas variaciones también han ocurrido en otras especies, concomitantemente a su estudio continuado.

Con el descubrimiento de dos nuevos aleles en el locus F-V, mediante múltiples reacciones cruzadas fueron caracterizados los fenogrupos F_1 , F_2 , V_1 , V_2 . Las investigaciones sucesivas han demostrado que prácticamente en casi su totalidad, los locus (loci) de grupos sanguíneos y serogenéticos encierran múltiples aleles (son polimórficos).

(1) Profesor Titular, Cátedra Genética y Biometría, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

(2) Director del Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

Aun cuando el número de los locus génicos que afectan la compleja estructura antigénica de las células rojas difícilmente exceda el número de 20, son enormes las potencialidades para la exploración de la diversidad alélica en cada uno de los locus, particularmente en las especies bovinos, equinos, aves, hombre, monos, ovinos y peces. De esta manera, la exploración de esas potencialidades genéticas en las distintas especies, son similares a las tipificaciones de Sistema de Grupos Sanguíneos Eritrocitarios y Serogenéticos de bovinos y ovinos. Investigaciones concretas, en este sentido, sobre Grupos Sanguíneos similares a los de Bovinos, fueron realizados en el Búfalo americano (*Bison bison*) por OWEN et al. (1958) y STORMONT et al. (1961 a). Estudios comparativos de los Sistemas de Grupos Sanguíneos entre bovinos y ovinos fueron publicados por RASMUSEN (1960) y RASMUSEN et al. (1960).

Los Sistemas de Grupos Sanguíneos Eritrocitarios A, B, C, F-V, J, L, M, S y Z del Búfalo americano, son homólogos a los mismos Sistemas del Bovino doméstico. En el Sistema F-V del Búfalo se conoce un único alelo, que no obstante producir reacción cruzada con los reactivos anti-F y anti-V bovinos, este fenogruppo designado FVb es claramente diferente a cualquier fenogruppo F-V bovino.

Todos los Búfalos tipificados han sido "L-positivos". El L del Búfalo se demuestra serológicamente indistinguible del L del Bovino doméstico, exacta homología que también se expresa en los fenogruppos de los Sistemas J, M y Z. Como resultado de esta marcada similitud de las dos especies en éste y otros aspectos, STORMONT et al (1961 a), consideran y proponen que el Búfalo americano y el Bovino doméstico "merecen" ser reconocidos como miembros del mismo Género *Bos*.

Contrariamente a los estudios Búfalo-Bovino, no aparece identificación de fenogruppos entre bovinos y ovinos domésticos, no obstante las numerosas reacciones cruzadas ob-

servadas, particularmente en los Sistemas B de ambas especies, demostrando particulares diferencias en fenogruppos que participan de las mencionadas reacciones cruzadas.

La extensión de las investigaciones de Grupos Sanguíneos Bovinos y Ovinos a otras especies, sobre bases heterogenéticas, constituye uno de los proyectos más fascinantes en el área de la Ciencia Genética (Stormont, 1962). Un intento en este sentido, fue realizado con el Sistema "FORSSMAN" para incluir otras especies en la Familia Bovidae, en adición a la cabra doméstica y ovino (Stormont and Susuki, 1958).

Está demostrado que el Sistema A bovino tiene su análogo en numerosas especies de las Familias Bovidae y Cervidae, evidenciado en parte por la producción de anticuerpos "anti-A" en conejos al inyectarles células rojas de esas especies. Agregado a la producción de "reactivos" A por heteroinmunización de conejos con células rojas de Búfalo (Owen et al., 1958), se han obtenido reactivos "anti-A" provenientes de antisueros contra eritrocitos de Búfalo africano, antilope saltador y otros tipos, gacela, gnu, cabra doméstica, ovino doméstico, ovino "mouthon", ciervo axis, ciervo "mula" y ciervo cola negra. Muchos de estos antisueros pueden ser usados sin absorber, en diluciones de 1/64 hasta 1/1024, como "reactivos" anti-A en las tipificaciones de Bovinos. Por otra parte, se espera obtener una larga serie de subtipos heterogenéticos A₁, A₂, A₃, A₄ ... etc... A_n, los cuales pueden resultar extremadamente útiles en estudios de relaciones taxonómicas en Bovidae y Cervidae (Stormont, 1962). En la actualidad, estos subtipos serológicos están analizados en detalle.

También se ha descubierto que el Sistema J de la cabra doméstica, es mucho más similar al J bovino que el Sistema R-O ovino (Suzuki and Stormont, 1961). Se considera que muchas otras relaciones, tales como estudios comparativos del Sistema F-V en Camélidos con el F-V en bo-

vino, están virtualmente inexploradas. Eventualmente, podría ser prueba de considerable significancia taxonómica (Stormont, 1962).

Resulta de inusitado interés la exploración de diferencias raciales en la mayoría de las razas de *Bos taurus* y *Bos indicus*, como así también los estudios de razas de bovinos silvestres, por ejemplo, Banteng, Gaur, Kouprey, etc. En Argentina se han limitado las investigaciones raciales comparativas del Bovino Criollo con otras razas, fundamentalmente con el Longhorn Americano (Quinteros, 1975).

Mediante innumerables investigaciones inmunogenéticas, se ha demostrado notable diferencia existente entre las distintas razas bovinas, especialmente con respecto a los alelos del locus B.

El factor sanguíneo Z', y por lo tanto el alelo $a_{A_1D_2Z'}$, puede ser extremadamente útil para los estudios de derivación filogenética en diversas razas de bovinos Europeos, Asiáticos y Africanos. En Estados Unidos, Z' presenta su más alta frecuencia en American Brahman, ocurrido también en American Charolais, Charbrays, Guernsey, Jerseys y Longhorns. Z' no ha sido detectado en bovinos Americanos de raza Ayrshire, Aberdeen-Angus, Brown-Swiss, Shorthorn, Holstein-Friesian y Red Polled.

Z' tampoco fue detectado en las razas Noruegas (Dola y Telemark) estudiadas por Braend (1959), ni en las Danesas (Neimann-Sorensen, 1958), como tampoco en las razas Suecas (Rendel, 1958) ni Germanas (Tolle, 1960).

Z' ocurre en la raza Devon al Sur de Gran Bretaña y en razas francesas.

La actual distribución de Z' en las razas bovinas Europeas, sugiere una línea de demarcación que se extiende desde el extremo Sur de Inglaterra, atraviesa el Norte de Francia, se orienta hacia el Sur bordeando Francia dividiendo Italia hasta Turín y Milán. Trazando esta línea a través de Europa y Asia, mediante investigaciones inmunogenéticas sería posi-

ble obtener información acerca de las primeras migraciones de diversas tribus humanas y del origen de muchas de nuestras razas de bovinos domésticos (Stormont, 1962).

Otro aspecto de interés concierne el Sistema J bovino (segregante) cuyo "reactivo" específico "anti-J" se obtiene del suero natural o normal de bovinos "J-negativos". No obstante ello, en oportunidades se hace por demás dificultoso determinar los diversos intergrados fenotípicos de este factor sanguíneo, por lo cual, deben obtenerse "reactivos" para tipificación del Sistema J capaces de producir lisis de todos los tipos de células "J-positivas", que permita detectar los animales realmente "J-negativos". STORMONT y SUZUKI (1960) descubrieron que los conejos "J-negativos", hiperinmunizados con células rojas humanas del tipo A, producen anticuerpos que reaccionan con singular potencia contra eritrocitos de bovinos "J-positivos". También demostraron que los bovinos "J-negativos" inmunizados con células A humanas, producen antisueros "anti-J" bovino.

Como en esta exposición panorámica sobre Inmunogenética el patrón preferente es la especie bovina, debo aclarar que los Sistemas Genéticos de Grupos Sanguíneos Eritrocitarios (básicos) de Bovino, son los siguientes: A, B, C, F-V, J, L, M, N, S, Z y R' - S'.

Deben agregarse los Sistemas correspondientes a los Grupos Serogenéticos, por ejemplo, Transferrinas, Hemoglobinas, Albúminas, Prealbúminas, Anhidrasa carbónica, etc. De acuerdo con STORMONT (1962), las pautas establecidas, concretamente son como siguen:

- a) Se define como Sistema Genético de Grupos Sanguíneos a los Grupos Sanguíneos que son controlados por los alelos de un solo o único gene. El término Sistema alude a los grupos de factores antigénicos "no-independientes" (Miller, 1976).
- B) Los productos de alelos individuales de cada Sistema (o locus

génico) se refieren o se reconocen como fenogrupos (ejemplo $B^1P^1Q^1E^1_1$, $B^1B^1G^1K^1O^1_2Y^1_1A^1E^1_3G^1K^1Y^1B^1O^1$, etc.).

- c) La cantidad de fenogrupos identificados en cada uno de los Sistemas, especifica el mínimo número de aleles involucrados en el control efectuado por ese Sistema.
- d) Está establecido que los Sistemas Genéticos Sanguíneos, en general son polimórficos, algunos con extenso polimorfismo, como ocurre en el Sistema B bovino que cuenta más de 600 aleles conocidos.

El término "Grupo Sanguíneo" tuvo su origen en la clasificación de poblaciones humanas, como consecuencia de reacciones cruzadas de aglutinación de células rojas y sueros de individuos de esas poblaciones (Landsteiner, 1900, 1945).

Los primeros grupos reconocidos fueron A, B, O, y AB. Los individuos de igual grupo se los consideró del mismo "tipo sanguíneo". Posteriores experimentos revelaron un número creciente de antígenos celulares, lo que incrementó numéricamente la cantidad de tipos sanguíneos. Hallazgos comparables en otras especies, demostraron que el hombre no era "excepcional" en este respecto.

Los genotipos sanguíneos están totalmente controlados por genes que

representan a cada uno de los Sistemas. La multiplicidad de tipos son agrupados por sus reacciones serológicas y transmisión hereditaria Mendeliana. Los grupos serogenéticos también se heredan a la manera Mendeliana, pero su detección se realiza por técnicas bioquímicas.

Como se estableció anteriormente, los Sistemas son controlados por múltiples aleles en correspondencia a cada Sistema independiente (Sistema A-B-O, Sistema Rh, Sistema B Bovino, etc.), no obstante alguna excepción de linkage genético de ocurrencia entre Sistemas (Briles, 1968).

Los antígenos de superficie de las células rojas de vertebrados, representan un "impresionante" atavio de diferencias bioquímicas entre individuos y especies, de tal manera que en el Sistema B bovino existe la posibilidad actual de aproximadamente 45.000 combinaciones diploides de fenogrupos o formas alélicas B (Stormont, 1962), y el número de posibles tipos sanguíneos en Bovinos puede llegar al trillón considerando todos los Sistemas y todas las razas (Stormont, 1967), teniendo en cuenta la existencia de los 11 Sistemas antigénicos de células rojas, que exhiben polimorfismo. De esta manera, el genotipo sanguíneo total individual, es comparable a la impresión digital del humano.

MÉTODOS INMUNOGENÉTICOS

Los sueros normales han sido y son utilizados como fuente productora de determinados anticuerpos específicos, por ejemplo, para detectar los "factores antigénicos" A y B humanos, suero normal bovino como anti-J, etcétera.

No obstante ello, la mayor parte de los antígenos celulares deben ser detectados mediante antisueros específicos, preparados por procesos de "iso-inmunización" (*bovino-anti-bovino*), o por "héteroimmunización"

(conejo anti-bovino, conejo anti-Macacuscus rhesus para Rh, etc.).

En general, el antisuero elaborado por isoimmunización, encierra más de una especificidad (polivalente), por lo cual, para transformarlo en monovalente se lo "absorbe" con células rojas de genotipo conocido, liberándolo de las especificidades no-deseadas, con cuyo procedimiento queda convertido en "reactivo específico".

De acuerdo a la fuente productora de anticuerpos, los tests serológicos

tipos de tipificación sanguínea en inmunogenética, son los siguientes: por "aglutinación", "hemolíticos" y de "inhibición". A partir de aquí, se investigan las bases genéticas por

análisis de datos familiares (toro-familia), en Poblaciones Genéticas con aplicación del principio de Hardy-Weinberg en la distribución alélica, estudio de deriva génica en poblaciones determinadas, etc.

ALGUNOS CONCEPTOS HISTORICOS

En las postrimerías del Siglo XIX, SPILLICH, BORDET, LANDOIS, etc., observaron reactividades serológicas entre células rojas y distintos sueros que indujo al concepto de "especie-especificidad" sanguínea (Wiener, 1943). Sobre el comienzo de 1900,

LANDSTEINER informó sobre los grupos sanguíneos "ABO" humanos. Von DUNGERN y HIRSZFELD (1911), comprobaron peculiares reacciones celulares "asimétricas" en el antígeno A humano, instaurando el concepto de "sub-tipo" (Miller, 1976).

TIPO CELULAR	REACTIVO	
	anti-A ₁	anti-A ₂
A ₁	+ aglutinación	+ aglutinación
A ₂	- no-aglutinación	+ aglutinación

(De acuerdo a Miller, 1976).

LANDSTEINER y Van Der SCHEER (1924) demostraron las diferencias existentes entre el caballo, mula y burro mediante absorción de antisueros contra las células rojas de estos tipos de animales, descubriendo antígenos "especie-específicos", los cuales están presentes en todos los individuos de cada especie.

Como se dijo más arriba, IRWIN comenzó en 1930 la expansión de conocimientos sobre grupos sanguíneos, tomando el nombre de INMUNOGENETICA a esta rama de investigación genética. IRWIN y COLE (1936) separaron antígenos "especie-específicos" de palomas, por "back-cross" de híbridos "inter-especies". Mediante técnicas más refinadas, MILLER y BRYAN (1953) demostraron que los antígenos "especie-específicos" usualmente presentaban relaciones conexas en las especies contras-

tantes, conocimiento posibilitado por el estudio que realizaron sobre el momento de aparición de los antígenos "especie-específica" de Columba guinea en los embriones de híbridos por back-cross, efectuando también la diferenciación serológica de homocigotes y heterocigotes en back-cross de individuos fruto de cruzamiento de especies Columbidae (Miller, 1953; Miller, 1958; Miller and Bryan, 1953; Irwin and Miller, 1961).

STORMONT et al. (1951) mostraron que las diferencias individuales en los antígenos de células rojas de bovinos "encajaban" en "Sistemas genéticos", a menudo compuestos de agrupamientos de factores heredados en "bloque" (fenogrupos o Haplotipos). Un expresivo ejemplo es el fenogrupa BGK₂Y₁A'B'E₃G'K'O'Y' del Sistema B, con una frecuencia de 27 por ciento en ganado Jersey.

Los fenogrupos han sido descubiertos en cada especie estudiada. BRILES et al. (1959) lo hizo en la gallina doméstica, RASMUSEN (1965) en cerdos, RIDGWAY (1966) en salmón y trucha. De manera similar, los fenogrupos han sido encontrados en los sistemas sanguíneos humanos (Wiener, 1954). BRYAN e IRWIN (1961), realizaron absorciones cruzadas de reactivos específicos con células rojas de 18 especies relacionadas, demostrando que los antígenos C "especie-específicos" de Columba guinea se integran con no menos de 15 componentes antigénicos, los que re-

velaron combinaciones particulares de especificidades antigénicas (fenogrupos).

Un sistema inmunogenético "especie-específico" puede exhibir diferencias individuales, por ejemplo, en búfalo y bovino. STORMONT et al. (1951), comprobaron que X_1 (incluye los subtipos X_2 y X_3), el cual exhibe diferencias individuales en bovino, tiene ocurrencia en todos los búfalos testados. No obstante ello, el búfalo puede poseer uno, dos o tres fenogrupos (por combinaciones diploides), C_2WX_1 , WX_1 , o X_1 (Miller, 1958).

HERENCIA DE LOS FACTORES ANTIGENICOS SANGUINEOS

La regla predominante establece que un antígeno celular, se expresa como dominante Mendeliano a su ausencia, codominante con otros antígenos alélicos y no hipostático.

Aún cuando esta afirmación es válida, en ovinos el Tipo O es recesivo al R (Stormont, 1951). Las interacciones no son frecuentes, pero se las ha observado entre los sistemas Lewis (secretor) y ABO (Walkins, 1966). RENDEL et al. (1954) observaron control epistático del gene "ii" sobre el locus R-O en ovinos. LEVINE et al. (1955), descubrieron la epistasis de "xx" e "yy" sobre A y B humanos, descubrimiento también debido a WIENER et al. (1957).

Especificidades de interacción alélica son de ocurrencia en grupos sanguíneos en algunas especies híbridas de palomas (Irwin, 1932), en los cuales el heterocigote demuestra especificidades serológicas que sobrepasan los tipos antigénicos homocigóticos (Bryan and Miller, 1953), induciendo que estas "sustancias híbridas" pueden tener alguna relación con el vigor híbrido (Miller, 1976). Algunas especificidades de interacciones no-alélicas se "fijan" como caracteres de especies, habiéndose demostrado que los productos de interacción alélica son registrados para ciertas diferencias individuales en conejos (Palm and Irwin, 1962; Miller and Weber, 1969; Cohen, 1962; Miller, 1976).

ONTOGENIA

El tiempo de desarrollo de los factores y sistemas sanguíneos varía desde el primer estado embrionario a etapas distintas de incubación o posteriormente al nacimiento (Briles et al., 1948; Miller, 1953). OWEN (1962), comprobó que en la rata los antígenos C y E eritrocitarios, aparecen sobre el décimo día de gesta-

ción, pero en antígeno A se expresa a los 32 días posteriores al nacimiento. El antígeno celular P_1 es más potente en el primer estado fetal humano (Ikin et al., 1961).

TOIVANEN y HIRVONEN (1969), describieron el desarrollo ontológico de diversos antígenos de células rojas en humanos, algunos de los cua-

Ellos mostraron la misma frecuencia y potencia a las nueve semanas de gestación que en el estado adulto (antígeno k). Otros antígenos (f, Au^a y Eba), aparecen con el nacimiento.

Un aspecto de interés es que "no todos los factores adultos" dentro del mismo fenogruppo, se expresan simul-

táneamente en la ONTOGENIA (Miller and Hubbert, 1975; Shaw and Stone, 1962). Se considera que tales diferencias de desarrollo, presumiblemente están en correspondencia a su función (Hubbert and Miller, 1974; Miller, 1976).

INMUNOQUIMICA Y BIOSINTESIS

Actualmente se estudian los detalles de la naturaleza bioquímica de los grupos sanguíneos (Sharon, 1974; Watkins, 1966). Diversos grupos sacáridos terminales y subterminales conectan con un sustrato aminoácido, conformando una glucoproteína. El ácido siálico interviene como componente de los antígenos M-N y Rh humanas, como así también del Sistema F-V bovino (Hines et al., 1972).

Presumiblemente, en la traducción genética, el RNA mensajero permite

el "acordonamiento" de aminoácidos en los poli-ribosomas, de tal manera que la estructura antigénica producida en el retículo endoplásmico puede tener carbohidratos agregados, provenientes por acción de transferasas del aparato de Golgi (Miller, 1976). Ello significa la existencia de alguna entidad de transporte o de acción sobre la membrana lipídica (Jamieson y Palade, 1967; Morré et al., 1971; Quinteros y Miller, 1968).

RESULTANTES FISIOLÓGICAS

Existen correlaciones fisiológicas en el Sistema ABO humano, asociadas a rasgos de importancia médica (Allison, 1964). Se presume que la úlcera duodenal es 40% más frecuente en el tipo O que en otros grupos. Los individuos con tipo A presentan mayor susceptibilidad al carcinoma de estómago (Aird et al., 1954). BARNERJES y SABA (1968), llegaron a la conclusión que los Chinos de tipo O son más resistentes a la tuberculosis pulmonar, en relación a otros grupos.

Actualmente se conocen muchas otras asociaciones, pero en su mayoría asociadas solamente por métodos estadísticos, sobre muestreos de poblaciones numerosas (miles de individuos en cada población), con lo que no concuerda gran número de biólogos, quienes exigen rigurosa asociación comprobada fehacientemente y no deducida (Miller, 1976).

Otra consecuencia fisiológica involucra la incompatibilidad materno-fetal conocida como enfermedad hemolítica de Rh. No obstante ello, el Sistema ABO puede ser más importante en cuanto a incompatibilidad, aun cuando menos dramático. De esta manera MATSUNGA e ITOH (1958) confirmaron que la incompatibilidad materno-fetal ABO constituye la mayor causa de muerte fetal, presumiéndose que la pérdida muy temprana de cigotes incompatibles es de aproximadamente el 2% del total de concepciones (Chung and Morton, 1961).

LEVINE (1958) descubrió que en incompatibilidades simultáneas en los Sistemas Rh y ABO, está excluida la ocurrencia de enfermedad hemolítica Rh, presumiblemente en base a pérdida embrionaria temprana. No obstante la presencia de tales presiones selectivas, las frecuencias de O,

A, B y AB en las poblaciones conforman el equilibrio de HARDY-WEINBERG, implicando, en consecuencia,

adicionales selecciones oposicionales no diagnosticadas (Miller, 1976).

VENTAJA HETEROCIGOTICA

La ventaja heterocigótica (heterosis) ha sido postulada para explicar la sustentación de la gran variedad de grupos sanguíneos, como así también, de otros polimorfismos. De acuerdo a BRUES (1963), todos los heterocigotes en el Sistema ABO, demuestran alguna ventaja selectiva sobre los homocigotes. Otros ejemplos han sido informados en bovinos (Plum, 1959), en gallina doméstica (Shultz and Briles, 1953).

Hay dos hipótesis acerca de la ventaja heterocigótica, ellas son:

- a) Acción alélica independiente, vale decir, que el producto de cada alele es adaptable concurrentemente o en tiempos diferentes.

- b) Los efectos de interacción alélica en heterocigosis, son cuantitativa o cualitativamente diferentes a lo que ocurre en homocigosis. En este modelo se incluye el concepto de "sustancias híbridas".

PALM (1970), encontró sobrevivencia diferencial en favor de ratas heterocigóticas, y posteriormente (Palm, 1974 observó que la "incompatibilidad" en antígenos del "locus-B" favorece los procesos reproductivos, lo que fue confirmado por BEER et al. (1975) en lauchas y ratas. Contrariamente, BRILES y ALLEN (1961), informaron que los dos tipos homocigóticos en pollos, diferían con respecto al tiempo de mortalidad durante el desarrollo.

INSTANCIA MOLECULAR

Los parásitos y bacterias pueden poseer antígenos tan similares a los de algunos huéspedes, que las posibilidades de protección inmunológica contra tales agentes están notablemente reducidas. Por ejemplo, *Ascaris lumbricoides*, *Necator Americanus*, *Tenia solium* y *Schistosoma mansoni*, tienen iguales polisacáridos a los de A y B humanos, demostrado por tests de inhibición serológica.

Salmonella Typhimurium posee antígenos semejantes a los de la laucha. *Escherichia coli* O₈₆ tiene actividad que se asemeja al B humano (Springer et al., 1953).

Aproximadamente el 50% de las especies bacterianas "gram negativas" demuestran alguna actividad A, B o H (= O). La sustancia del grupo sanguíneo humano P₁, ha sido detec-

tado en alto porcentaje en Enterobacteriaceas (Roland, 1973).

Las poblaciones de especies huéspedes encierran un amplio rango de tipos alternativos de antígenos celulares, de tal suerte que se reduce la probabilidad de que cualquier parásito en particular aparezca su estructura antigénica con la del individuo huésped. De esta manera, la mayor parte de los integrantes de la especie huésped puede crear inmunidad o resistencia suficiente, como defensa vital.

Teniendo en cuenta la gran cantidad de especies parasíticas actuantes, para "escapar" a los efectos de parásitos o bacterias más frecuentes, se hace necesaria la respuesta mediante una "gran variación polimórfica alternativa" en los antígenos de las

células del huésped. Esto significa que la variación alternativa existe dentro de un sistema inmunogenético (alelismo).

Uno de los "sistemas complejos", con varios centenares de formas alélicas comprendidas en el locus o Sistema B en bovino, contiene suficiente variación para proveer protección y

continuación de la especie (Miller, 1976).

La evolución de los sistemas genéticamente independientes es oscura, en relación a huésped y parásito, pero ya ha sido postulada una "oscilación" de selección de estructura antigénica "parásito - huésped" (Damián, 1964).

FUNCION DE LA MEMBRANA ANTIGENETICA

El rol funcional de los antígenos como estructuras en o sobre la membrana celular, constituye el interrogante central, puesto que, de acuerdo a SUNDQVIST (1972) los antígenos pueden movilizarse, de tal manera que podría producirse un efecto primario funcional buscado por los antígenos de membrana.

CHUBA (1971), sugirió que la mitad de los heterosacáridos específicos funcionan como estructuras complementarias, que representan a un sistema de codificación, para macromoléculas "transportadoras - receptores", en el real rol fisiológico de los grupos sanguíneos.

NEMMO y HALL (1971), sugirieron que el mecanismo de translación depende de la diferenciación de los antígenos de membrana. Por otra parte, STEIN (1972) propuso que una proteína "ubicada" en la membrana celular, con diferentes afinidades por el sustrato, funciona en el traslado de carbohidratos por acción de los "sitios" transportadores de superficie.

RENDEL et al. (1964), expone un excelente ejemplo de antígenos conectados con "función". Demostró que en ovinos las células rojas Tipo O ayudaban o "mediaban" en la producción y liberación de la fosfatasa alcalina B, con la alternativa que las células rojas Tipo R siempre liberaban fosfatasa alcalina A, la cual ha sido definida como una forma molecular más veloz que el tipo B, por electroforesis en gel de almidón hidrolizado.

Otro efecto sorpresivo de asociación (100%) fue observado entre el "bombeo" sodio-potasio correlacionado a los tipos sanguíneos L-M de ovinos (Brewer et al., 1970). Pasado el estado fetal inicial de "alta tasa potásica", algunos ovinos exhiben células rojas transportadoras de gran dosaje de potasio (con actuación de un gene recesivo), pero ovinos de genotipo dominante, transportan escaso potasio en sus glóbulos rojos. El tipo sanguíneo L está siempre asociado con "bajo potasio" y su alternativa genética Tipo M, se asocia con alto potasio, habiéndose demostrado mediante reacciones de "anti-L" con "células L" de bajo potasio, que estas células son convertidas a K-transportadoras de dosis alta. De este modo, la estructura antigénica "afecta" el transporte metabólico celular (Miller, 1976).

Igualmente, la función depende de algunas estructuras que atraen nutrientes al interior celular o para excretar productos a su exterior. Coincidentemente, algunas de esas estructuras son también antigénicas. Las Glucoproteínas son de ocurrencia en las membranas celulares y diferenciables serológicamente. Esto significa que la función primaria de los antígenos de membrana, podría ser de transporte e interacción celular, cuyas funciones dependen de una suerte de código para reconocimiento estructural. De esta manera, los antígenos celulares servirían a la especificidad de los requerimientos del código (Hubbert and Miller, 1974).

Probablemente, las funciones de transporte están aun más relacionadas que lo que se conoce actualmente, donde estarían involucrados los "súper-genes" (Ford, 1964).

De acuerdo con MILLER (1976), el polimorfismo puede resultar de cambios ocurridos en locus génicos independientes que afectan el carácter, o bien de dos o más formas alélicas, ya sean "homoaleles" tales como las Hemoglobinas S y C de humanos que obedecen a modificaciones ocurridas en la posición del mismo codon, o bien a heteroaleles tales como la hemoglobina S (o C) comparada con G y O Arabia, que son la expresión de cambios ocurridos en diferentes codones codificados por determinado cistrón o "gene funcional".

Los "grupos sanguíneos" y "grupos serogenéticos" son ejemplos CLASICOS DE POLIMORFISMOS, desconociéndose todavía la razón esencial de existencia.

Algunas formas alélicas podrían ser "isoaleles" (neutrales), vale decir, que no se aparearían a la función primaria, pero también podrían actuar como "homoaleles" o "heteroaleles" para efectos secundarios "no-neutrales" (pleiotropismo). Esta explicación "multifuncional" parece ser la actitud correcta.

Básicamente, los antígenos de membrana pueden servir como códigos de reconocimiento en transporte celular y en interacción "célula-célula". Probablemente, cada tipo de código está controlado por un sistema genético diferente, en cambio, la variedad mayor es controlada por aleles múltiples. La variedad puede tener consecuencias innatas diferentes en enfermedades y reacciones fisiológicas superficiales con ventajas heterocigóticas en interacciones complejas, en correspondencia a distintas presiones selectivas.

GRUPOS SEROGENETICOS

Está demostrado que los caracteres genéticos sanguíneos "polimórficos" resultan fehacientemente útiles para investigaciones de evolución, como también en relaciones y estructura de razas. Algunos de los "sistemas" son particularmente valiosos cuando no existen datos en pedigrées familiares, por cuanto los "genotipos" pueden ser "directamente determinados" (Braend and Khanna, 1968).

Por otra parte, la importancia de la variación genética en las proteínas del suero no está absolutamente restringida a la genética, evolución y relaciones de poblaciones, sino que induce a una mayor comprensión de las diferencias básicas existentes en los individuos, dentro y entre las especies, por ejemplo, funciones fisiológicas y resistencia a las enfermedades (Braend and Efremov, 1965).

TRANSFERRINAS

Las primeras comunicaciones sobre polimorfismo de Transferrinas en bovinos, detectados por electroforesis sobre el gel de almidón hidrolizado, fueron realizados por SMITHIES e HICKMAN (1958) y ASHTON (1958), quienes describieron tres aleles en razas europeas, Tf^a, Tf^d, Tf^e. MAKARECHIAN y HOWELL (1966), comprobaron que todas las bandas visualizadas en la región de transferrinas eran transportadoras de hierro, certificado por autorradiografía.

Investigaciones realizadas en distintas especies animales y hombre, sobre proteínas transportadoras de hierro, han demostrado que las mismas son heterogéneas y donde el "ácido siálico" es el máximo responsable de la heterogeneidad, la cual,

Investigaciones realizadas en distintas especies animales y hombre, sobre proteínas transportadoras de hierro, han demostrado que las mismas son heterogéneas y donde el "ácido siálico" es el máximo responsable de la heterogeneidad, la cual,

en dependencia del número residual por molécula proteica, generalmente produce dos o tres bandas (Williams, 1964; Baker et al., 1968; Stratil, 1970).

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

Minuciosas 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 la transferrina en bovino.

En primer término, se considera la existencia de un locus responsable para la síntesis de la cadena polipeptídica (Tf_p), de manera que las variantes genéticas más comunes controladas por este locus son Tf^A , Tf^{D_1} , Tf^{D_2} y Tf^E . Parece ser que la naturaleza diferencial existente entre las variantes individuales está basada en las sustituciones de un "único" aminoácido y que estas variantes son "secuencias aloméricas primarias" comparables a las variantes genéticas de las hemoglobinas y transferrinas humanas, extensivamente estudiadas (Stratil and Spooner, 1971).

La herencia codominante de estas variantes ha sido demostrada por ASHTON (1958), SMITHIES e HICKMAN (1958), KRISTJANSSON e HICKMAN (1965), etc.

STRATIL y SPOONER (1971), diferencian un posible "segundo locus" que controla el ordenamiento del ácido siálico en la cadena polipeptídica (Tf_{SA}). Estos autores sostienen que la mayoría de las transferrinas anormales poseen dos "residuos" de ácido siálico, pero advierten que "tres y cuatro residuos" son comparables en intensidad con la transferrina normal de "cuatro y cinco residuos". SPOONER y BAXTER (1969) evidenciaron que este ordenamiento de ácido siálico, probablemente lo

controla un locus separado del locus responsable de la síntesis de la cadena polipeptídica o locus Tf_p . Por otra parte, inducen que la distribución normal de ácido siálico (O-5) está controlada por un gene dominante, Tf_{SA}^S , y el tipo anormal (O-4) por un gene recesivo Tf_{SA}^s (Spooner and Baxter, 1969).

También STRATIL y SPOONER (1971) postulan un "tercer locus" que controla la formación de "bandas b", en un "par único" de bandas (Tf_b), considerando que debe existir una "determinante genética" particular para su control, por cuanto las "bandas b" no se manifiestan en los primeros estadios de la vida fetal (Spooner et al., 1970).

De acuerdo a ASHTON et al. (1967), en transferrina se conocen nueve o diez aleles codominantes correspondientes a un solo locus. Algunos de estos aleles son característicos de razas bovinas, por ejemplo, Tf^B y Tf^F en Cebú, aun cuando no en Jersey, Hereford o Shorthorn, pero otros aleles tales como Tf^A , Tf^{D_1} , Tf^{D_2} y Tf^E están ampliamente difundidos (Quinteros and Miller, 1968).

En bovinos, los fenotipos de transferrinas de mayor diferenciación y sus combinaciones son: A, AD_1 , AD_2 , AE, D_1 , D_1D_2 , D_2 , D_1E , D_2E y E. Cada tipo homocigota, en gel de almidón hidrolizado, migra a la manera de "cuatro proteínas diferentes" (Ashton, 1959; Quinteros and Miller, 1968). Los heterocigotes exhiben combinaciones de cuatro tipos de bandas, con distintas posiciones en la placa gelificada.

Los autores sugieren que la síntesis y expresión de las transferrinas en bovinos están controladas por ocho aleles, conformando la serie alélica Tf^{A_1} , Tf^{A_2} , Tf^B , Tf^{D_1} , Tf^{D_2} , Tf^F y Tf^G . Los ocho aleles conocidos se comportan como "codominantes", vale decir, que todas las combinaciones genotípicas posibles pueden ser evidenciadas mediante electroforesis, por cuanto, normalmente, siempre se expresan. No obstante, se han descrito casos de transferrinas con ex-

presión anormal, observadas en bovinos Hereford, donde las dos bandas de proteínas de mayor velocidad, aparentemente demuestran la misma movilidad correspondientes a las dos bandas lentas de ese mismo alele de transferrina en que aparece el carácter (Tfa₂, Tfd₁ y Tfd²), cuya aparición se explicaría por la presencia de un *gene epistático recesivo*, que se supone afecta el transporte de ácido siálico a las bandas proteicas normalmente más veloces (Spooner and Baxter, 1969).

Se ha demostrado que en la mayoría de las razas bovinas, hay neta predominancia de frecuencias génicas correspondientes a Tf^{A2}, TfD¹ y TfD², no ocurriendo lo mismo con Tf^E, cuya frecuencia es muy baja en las razas europeas, en las que tampoco son frecuentes Tf^{A1}, Tf^G, Tf^B y Tf^F, sosteniéndose hasta muy recientemente que las dos últimas estaban confinadas a las razas Cebú.

La escasa frecuencia del alele Tf^E observada en las razas europeas, contrariamente a su alta frecuencia en el Cebú, indujo a la sugerencia formulada por ASHTON (1958), de que el fenómeno podría estar asociado con mayor tolerancia a determinadas condiciones ecológicas.

En equinos fueron descubiertos, en gel de almidón hidrolizado, previa marcación con Fe⁵⁹, seis aleles codominantes (Braend and Stormont, 1964), denominados TfD, Tf^F, Tf^H, Tf^M, Tf^O y Tf^R. Cada alele es responsable de dos bandas, una de ellas relativamente densa seguida de una banda tenue, habiéndose detectado 16

diferentes fenotipos, lo que indica marcado polimorfismo.

En peces de la Familia Siluridae (Ictalurus melas), utilizando gel de almidón hidrolizado, se descubrió evidente polimorfismo en transferrinas del suero previamente marcado con Fe⁵⁹ (Fine et al., 1970). Este polimorfismo está basado en la existencia de 4 tipos de transferrinas que demuestran distinta velocidad electroforética. Los tipos detectados A, B, C y D se corresponden con los aleles de un solo locus, con observación de 7 fenotipos diferentes en un muestreo de 140 individuos provenientes de dos lagos ubicados en Sologne, Francia.

FINE et al. (1964a) descubrió la existencia de polimorfismo en el suero de la anguila (*Anguilla anguilla*) estableciendo que la característica de esta proteína transportadora de hierro es la misma para vertebrados en general y peces (Fine et al., 1964b).

El estudio de las transferrinas en la anguila, basado en la distribución de diferentes fenotipos, facilitó la "diferenciación" de dos especies, las que habían sido consideradas como una sola (Fine et al., 1967; Drilhon and Fine, 1968). También se observaron diferencias en la distribución de fenogrupos de transferrinas, de acuerdo con el área donde fueron capturados los especímenes (Drilhon et al., 1966, 1967, 1968), FINE et al. (1970), consideran que el objetivo fundamental de la primera etapa experimental es tipificar cada tipo de transferrinas y comparar su diferencia de expresión estructural.

ALBUMINAS Y HEMOGLOBINAS

En los últimos años, los autores han descubierto polimorfismos en Albúminas y Hemoglobina, controladas por locus (loci) diferentes en las distintas especies estudiadas, con presentación de codominancia. Su manera de herencia es igual a la de transferrinas. La detección de estos

grupos se hace por electroforesis sobre gel de almidón hidrolizado.

Albúminas

BRAEND y EFREMOV (1965), comunicaron el hallazgo de tres fenotipos de albúmina sérica en bovinos

del Sur de Europa, cuya distribución fue explicada por la existencia de dos alelos codominantes, denominados Alb^F y Alb^S (F=rápida y S=lenta).

En un estudio comparativo diferencial de plasma bovino con otras especies efectuado 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, con expresión de tres fenotipos que fueron denominados A, B y AB, proponiéndose que dichos fenotipos son controlados por un par de "alelos autosomales codominantes" Alb^A y Alb^B (Quinteros, Stevens, Stormont and Asmundson, 1964).

ASHTON y LAMPKIN (1965), describieron polimorfismos de Albúminas en suero de Bovinos Africanos, con hallazgo de cinco fenotipos, por ocurrencia de tres alelos que denominaron Alb^A , Alb^B y Alb^C . En Bovinos criollos y Longhorn Americano se han identificado los genogrupos F y FS (Quinteros, 1976).

Hemoglobinas

SCHROEDER et al. (1967), describieron variantes en la parte proteica de la estructura primaria de la Hb^A y Hb^B .

La cadena "alfa" tiene 141 aminoácidos residuales, y 145 la cadena "beta". Las moléculas de cadenas "alfa" de Hb^A y Hb^B son idénticas, pero la cadena "beta" de Hb^B difiere de Hb^A en tres lugares (posiciones 15, 18 y 119), que en Hb^B son Serina, Histidina y Asparagina, respectivamente (Braend, 1971).

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

La variación correspondiente a las moléculas de Hb^C (Africa) y Hb^D , probablemente también ocurre a nivel del locus para la cadena "beta", aun cuando la secuencia completa de aminoácidos de estas dos moléculas de hemoglobina, todavía no se la conoce totalmente (Efremov and Braend, 1965b).

EFREMOV y BRAEND (1965a) y BRAEND et al. (1965), informaron sobre el descubrimiento de una variante a la que denominaron Hb^D , cuya migración electroforética es ligeramente más lenta que la Hb^A . BRAEND (1971), descubrió un nuevo tipo de hemoglobina que denominó Hb^G .

MILLER (1966) detectó en Longhorn Americano los fenotipos Hb^A , Hb^B y Hb^AB (Mendeliana, Quinteros, 1976).

OBSERVACIONES FINALES

En los últimos años se han descubierto gran número de factores de grupos sanguíneos, determinados genéticamente en distintas especies. Estos grupos pueden utilizarse en el estudio de diferentes problemas de herencia, reproducción, análisis de filogénesis y procesos evolucionarios. Se ha demostrado que los grupos sanguíneos sirven para establecer semejanzas y diferencias entre poblaciones independientes (líneas y razas), como también en el análisis de

cambios que ocurren como consecuencia de los sistemas de reproducción y selección (Johansson y Rendel, 1972).

Algunas sustancias de la sangre, para las que se han establecido diferencias genéticas, ejercen funciones fisiológicas fundamentales en el individuo. Los estudios continuados de los efectos de estas diferencias cualitativas, probablemente puedan contribuir sustancialmente a la explicación de causas de variación en

muchas características cuantitativas (Johansson y Rendel, 1972).

Los grupos sanguíneos incrementarán su ya ganada importancia en los Centros Científicos de avanzada, en relación a diferentes aspectos de investigación vinculados a transfusiones, incompatibilidades materno-

fetal, trasplante de tejidos, cáncer (reversión a los antígenos embrionarios), medicina forense, diagnóstico de monocigosis en mellizos, freemartinismo en bovinos, estudios antropológicos, contribución en la ubicación sistemática de las especies, evolución y muchos aspectos teóricos de base inmunogenética.

BIBLIOGRAFIA

- AIRD, I., BENTALL, H. H., MEHIGAN, J. A. and ROBERTS, J. A. F. 1954. — The Blood groups in relation to peptic ulceration and carcinoma of colon, rectum, breast and bronchus. *Br. Med. j.*, 4883:315.
- ALLISON, A. C. 1964. — Polymorphism and natural selection in human populations. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Bio.*, 29:137.
- ASHTON, G. C. 1957. — Serum protein differences in cattle by starch gel electrophoresis. *Nature*, 180:197.
- ASHTON, G. C. 1958. — Genetics of beta-globulin polymorphism in British cattle. *Nature*, 182:370.
- ASHTON, G. C. 1959. — Beta-globulin alleles in Zebu cattle. *Nature*, 124:1135.
- ASHTON, G. C. 1965. — Cattle serum transferrins: a balanced polymorphism. *Genetics*, 5:983.
- ASHTON, G. C. and LAMPQUIN, G. H. 1965. — Serum albumin transferrin polymorphism in East African Cattle. *Nature*, 205:209.
- ASHTON, G. C., GILMOUR, D. G., KIDDY, C. A. and KRISTJANSSON, F. K. 1967. — Proposals on nomenclature of protein polymorphism in farm livestock. *Genetics* 56:353.
- BAKER, E., SHAW, D. C. and MORGAN, E. H. 1968. — Isolation and characterization of rabbit serum and milk transferrins. Evidence for difference in sialic acid content only. *Biochemistry*, 7:1371.
- BANERJEE, B. and SAHA, N. 1968. — Incidence of ABO and Rh blood groups in pulmonary tuberculosis in different ethnic groups. *J. Med. Genet.* 5:306.
- BRAEND, M. 1959. — Blood groups of cattle in Norway. *Skand. Bladforlang.* :144.
- BRAEND, M. and STORMONT, C. 1964. — Studies on Hemoglobin and transferrin types of Horses. *Nord. Med.*, 16:31.
- BRAEND, M., EFREMOV, G. and RAASTAD, A. 1965. — Genetics of bovine Hemoglobin D. *Hereditas*: 255.
- BRAEND, M. and EFREMOV, G. 1965. - Polymorphism of cattle serum Albumin. *Nord. Vet. Med.*, 17:585.
- BRAEND, M. and KHANNA, D. 1968. — Hemoglobin and transferrin types of some west African Cattle. *Animal Production*, Vol. 10, Part 2:129.
- BRAEND, M. 1971. — Hemoglobin variants in cattle. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics* 2 (1971):15.
- BEER, A. E., BILLINGHAM, R. E. and SCOTT, J. R. 1975. — Immunogenetic aspects of implantation, placentation and feto-placental growth rates. *Biol. Reprod.* 12:176.
- BREWER, G. J., COAN, C. E., EATON, J. W., SHREFFLER, D. C., SING, B. A., RASMUSEN, B. A. and BECK, C. C. 1970. — Blood groups and sodium potassium stimulated ATPase. *Academic Press*, New York.
- BRILES, W. E., MCGIBBON, W. H. and IRWIN, M. R. 1948. — Studies of time of development of cellular antigens in the chicken. *Genetics* 33:97 (Abstr.).

- BREES, C. O., MCGIBBON, W. H. and IRWIN, M. R. 1959. — Additional alleles affecting red blood cell antigens in the chicken. *Genetics* 44: 355.
- BREES, C. O. 1968. — New evidence for close linkage between the A and E blood group loci in the chicken. *Genetics* 60:164.
- BREES, W. E. and ALLEN, C. P. 1961. — The B blood group system of chicken II: The effects of genotype on livability and egg production in seven commercial inbred lines. *Genetics* 46:1273.
- BREES, A. M. 1963. — Stochastic tests of selection in the ABO groups. *Am. J. Phys. Antropol.* 21:287.
- BRYAN, C. R. and MILLER, W. J. 1953. — Interaction between alleles affecting cellular antigens following a species cross in Columbidae. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 39:412.
- BRYAN, C. R. and IRWIN, M. R. 1961. The relationship of cellular antigen C of Columba Guineato antigenic characters in other species of Columbidae. *Genetics*, 46:323.
- CHUBA, J. V. 1971. — Physiological "ecology" of blood groups. *Exp. Med. Surg.* 29:4.
- CHUNG, C. S. and MORTON, N. E. 1961. — Selection at the ABO locus. *Am. J. Hum. Genet.* 13:9.
- COHEN, C. 1962. — Blood groups in rabbits. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 97: art. 1.
- DAMIAN, R. T. 1964. — Molecular mimicry: antigen sharing by parasite and host and its consequences. *Am. Nat.* 98:129.
- DRILHON, A., FINE, J. M., BOFFA, G. A., AMOUCHE, P. and DROUET, J. 1966. — Les groupes de transferrines chez l'anguille. Différences phénotypiques entre les anguilles de l'Atlantique et les anguilles méditerranéennes. *C. r. Acad. Sci. (Paris)* 262: 1315.
- DRILHON, A., FINE, J. M., AMOUCHE, P. and BOFFA, G. A. 1967. — Les groupes de transferrines chez Anguilla anguilla. Etude de deux populations méditerranéennes d'origine géographique différente. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 265:1096.
- DRILHON, A. and FINE, J. M. 1968. — Importance de l'étude des transferrines sériques dans l'étude de la différenciation des espèces. Résultats acquis dans la genre Anguilla (Bale) 555.
- EFREMOV, G. and BRAEND, M. 1965 a. — A new hemoglobin in cattle. *Acta Vet. Scand.*, 6:109.
- EFREMOV, G. and BRAEND, M. 1965 b. — Differences in cattle globins. *Biochem. J.* 97:867.
- FINE, J. M., DRILHON, A., MARNEUX, M., MAZEAUD, F. and AMOUCHE, P. 1970. — Polymorphism of transferrins in *Ictalurus melas*. *Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics.* 1:235.
- FINE, J. M., DRILHON, A., AMOUCHE, P. and BOFFA, G. A. 1964 a. — Existence de groupes sériques chez *Anguilla vulgaris*. Mise en évidence par électrophorese et autoradiographie de plusieurs types de transferrines. *C. r. Acad. Sci. (Paris)*, 265:1096.
- FINE, J. M., DRILHON, A., BOFFA, G. A. and AMOUCHE, P. 1964 b. — Les types de transferrines chez certains poissons migrateurs. *Protides biol. fluids*: 165.
- FINE, J. M., DRILHON, A., RIDGWAY, G., AMOUCHE, P. and BOFFA, G. A. 1967. — Les groupes de transferrines dans le genre Anguilla. Différences dans les fréquences phénotypiques de transferrines chez *Anguilla anguilla* et *Anguilla rostrata*. *C. r. Acad. Sci. (Paris)* 265:58.
- FORD, E. B. 1964. — *Ecological Genetics*. Methuen, London.
- FORD, E. B. 1965. — *Genetic Polymorphism*. MIT Press, Cambridge, Mass.
- HINES, H. C., SALFNER, B., UHLENBRUCK, G. and SCHMID, D. O. 1972. — Bovine erythrocyte membrane composition: association with the F-V and other glycoprotein systems. *Vox Sang.* 22:488.
- HUBBERT, W. T. and MILLER, W. J. 1974. — Immunogenetic ontogeny of cellular membrane function: a review. *J. Cell. Physiol.* 84:429.

- IKIN, E., KAY, H. W. M., PLAYFAIR, J. H. L. and MOURANT, A. E. 1961. — P₁ antigen in the human fetus. *Nature*, 192:883.
- IRWIN, M. R. — 1932. — Dissimilarities between antigenic properties of red blood cells of dove hybrids and parents. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 29:850.
- IRWIN, M. R. and COLE, L. J. 1936. — Immunogenetic studies of species and of species hybrids in doves, and the separation of *species specific* substances in the back-crosses. *J. Exp. Zool.*, 73:85.
- IRWIN, M. R. and MILLER, W. J. 1961. Interrelationships and evolutionary patterns of cellular antigens in Columbidae. *Evolution*, 15:30.
- JAMIESON, J. D. and PALADE, G. F. 1967. — Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I: Role of the peripheral elements of the Golgi complex. *J. Cell Biol.* 34:577 (I): 597 (II).
- JOHANSSON, I. and RENDEL, J. 1972. -- *Genética y mejora animal*. Ed. Acribia. España.
- KRISTJANSSON, F. K. and HICKMAN, C. G. 1965. — Subdivision of the allele Tf D for transferrins in Holstein and Ayrshire cattle. *Genetics* 52: 627.
- LANDSTEINER, K. 1900. — *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektioskr. Hyg.* 27:357.
- LANDSTEINER, K. and VAN DER SCHEER, 1924. — Serological examination of a species hybrid. *J. Immunol.* 3: 213.
- LANDSTEINER, K. and LEVINE, P. 1928. — On the inheritance of agglutinogens in human blood demonstrable by immune agglutinins. *J. Exptl. Med.* 48:731.
- LANDSTEINER, K. 1945. — *The specificity of serological reaction*. Harvard University Press. Cambridge, Mass.
- LANDSTEINER, K. 1962. — *The Specificity of Serological Reactions*. Dover Publications, Inc. New York.
- LEVINE, P. 1958. — The influence of the ABO system on Rh hemolytic disease. *Hum. Biol.* 30:14.
- LEVINE, P., ROBINSON, E., CELANO, M., BRIGGS, O. and FALKINBURG, L. 1955. — Gene interaction resulting in suppression of blood group substance B. *Blood* 10:1100.
- MAKARECHIAN, M. and HOWELL, W. E. 1966. — Improved technique for separation and identification of bovine beta-globulins by starch gel electrophoresis. *Can. J. Biochem. Physiol.* 44:1089.
- MATSUNAGA, E. and ITOH, S. 1958. -- Blood groups and fertility in a Japanese population, with special reference to intra-uterine selection due to maternal-foetal incompatibility. *Ann. Human. Genet.* 22:111.
- MILLER, W. J. 1953. — The time of appearance of species-specific antigens of *Columba guinea* in the embryos of backcross hybrids. *Physiol. Zool.* 26:124.
- MILLER, W. J. 1958. — Subtypes in cattle blood typing. *X Int. Congr. Genet. Proc.*, 2:190 (Abstr.).
- MILLER, W. J. and BRYAN, C. R. 1953. — Serological differentiation of the homozygotes and heterozygotes in backcross birds following a species cross in Columbidae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 39:407.
- MILLER, W. J. 1966. — Blood groups in Longhorn cattle. *Genetics.* 54, 2: 391.
- MILLER, W. J. and HUBBERT, W. T. 1975. — Adult isoantigen and lectin reactivity of bovine fetal red cells. *Biol. Neonate* 27:23.
- MILLER, W. J. and WEBER, J. L. 1969. — First case a nonallelic interaction product as a species-specific red cell antigen. *Genetics*, 62:619.
- MILLER, W. J. 1976. — Blood groups: Why do they exist? *Bio Science*, Vol. 26, N° 9:557.
- MORRE, D. J., MOLLENHAUER, H. and BRACKER, C. E. 1971. — Origin and continuity of Golgi apparatus. Springer-Verlag, Berlin.
- NIMMO, I. A. and HALL, J. G. 1971. — Differences in the permeability of

- bovine erythrocytes to fructose. *Biochem. J.*, 122:55.
- NEIMANN-SORENSEN, A. 1958. — Blood Groups of Cattle: 117. A/S Carl. Fr. Motensen. Copenhagen, Denmark.
- OWEN, R. D., STORMONT, C. and IRWIN, M. R. 1958. — Studies on blood groups in the American bison (búfalo). *Evolution*, 12:102.
- OWEN, R. D. 1962. — Earlier studies of blood groups in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 97:art. 1.
- PALM, J. and IRWIN, M. R. 1962. — Interaction of nonallelic genes on cellular antigens in species hybrids of Columbidae. *Genetics*. 47:1409.
- PALM, J. 1970. — Maternal-fetal interaction and histocompatibility antigen polymorphisms. *Transplant. Proc.*, 2:162.
- PALM, J. 1974. — Maternal-fetal histocompatibility in rats—an escape from adversity. *Cancer Res.* 34: 2061.
- PLUM, M. 1959. — Hetero blood types and breeding performance. *Science*, 129:781.
- QUINTEROS, I. R., STEVENS, R. W., STORMONT, C. and ASMUNDSON, V. S. 1964. — Albumin phenotypes in turkeys. *Genetics*, 50:579.
- QUINTEROS, I. R. and MILLER, W. J. 1968. — An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. *Biochemical. Genetics*, 2:213.
- QUINTEROS, I. R. 1976. — Estudio racial comparativo de marcadores genéticos en Bovinos Criollos. *Mendeliana* 1(1976):9.
- RASMUSEN, B. A. 1960. — Blood groups in sheep. II. The B system. *Genetics* 45:1405.
- RASMUSEN, B. A., STORMONT, C. and SUZUKI, Y. 1960. — Blood groups in sheep. III. The A, C, D and M systems. *Genetics*, 45:1595.
- RASMUSEN, B. A. 1965. — $E^{aef}(E^6)$, a sixth allele at the E blood group locus in Yorkshire pigs. *Vox Sang.*, 10:242.
- RENDEL, J., NEIMANN-SORENSEN and IRWIN, M. R. 1954. — Evidence for epistatic action of genes for antigenic substances in sheep. *Genetics* 39:396.
- RENDEL, J. 1958 b. — Studies of cattle blood groups. IV. The frequency of blood group genes in Swedish cattle breeds, with special reference to breed structure. *Acta Agr. Scand.* 8:191.
- RENDEL, J., AALAND, O., FREEDLAND, R. A. and MOLLER, F. 1964. — The relationship between the alkaline phosphatase polymorphism and blood group O in sheep. *Genetics* 50:973.
- RIDGWAY, G. J. 1966. — A complex blood group system in salmon and trout. *Proc. of Tenth European conference on Blood Groups and Biochemical Polymorphism: 31.* Paris.
- ROLAND, F. 1973. — Presence of the human blood group substance P_1 in Gram negative bacilli. *Ann. Microbiol. (Paris)*, 124:375.
- SCHROEDER, W. A., SHELTON, J. R., SHELTON, J. B., ROBERSON, B. and BABIN, D. R. 1967. — A comparison of amino acid sequences in the Beta chains of adult bovine hemoglobins A and B. *Archs. Biochem. Biophys.*, 120:124.
- SHARON, N. 1974. — Glycoproteins. *Sci. Am.*, 230:78.
- SHAW, S. H. and STONE, W. H. 1962. — Time of appearance of antigenic factors on cattle erythrocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111:105.
- SHULTZ, F. T. and BRILES, W. E. 1953. — The adaptative value of blood group genes in chickens. *Genetics*, 38:34.
- SMITHIES, O. 1955. — Zone electrophoresis in starch gels. *Bioc. J.* Vol. 61:629.
- SMITHIES, O. and HICKMAN, C. G. 1953. — Inherited variations in the serum proteins of cattle. *Genetics*, 43:374.
- SPOONER, R. L. and BAXTER, G. 1969. — Anormal expression of normal transferrin alleles in cattle. *Biochemical Genetics*, 2:371.
- SPOONER, R. L., LAND, R. B., OLIVER, R. A. and STRATIL, A. 1970. — Foetal

- and neonatal transferrins in cattle. *Animal Blood Groups Biochem. Genetics*, 1:241.
- SPRINGER, G. P., HORTON, R. E. and FOBES, M. 1958. — Immunogenic origin of antihuman blood group agglutinins in germ free chicks. *Fed. Proc.*, 17:535.
- STEIN, W. D. 1972. — The mechanism of sugar transfer across erythrocyte membranes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 195:412.
- STORMONT, C. 1951. — An example of a recessive blood group in sheep. *Genetics.*, 36:577.
- STORMONT, C., OWEN, R. D. and IRWIN, M. R. 1951. — The B and C systems of bovine blood groups. *Genetics*, 36:186.
- STORMONT, C. 1952. — The F-V and Z systems of bovine blood groups. *Genetics*, 37:39.
- STORMONT, C. and SUZUKI, Y. 1958. — The distribution of Forssman blood factors in individuals of various Artiodactyl species. *J. Immunol.* 81: 276.
- STORMONT, C. and SUZUKI, Y. 1960. — On the "J" classification of rabbits and production of anti-J in "J-negative" rabbits. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 105:123.
- STORMONT, C., MILLER, W. J. and SUZUKI, Y. 1971 a. — Blood groups and the taxonomic status of American buffalo and domestic cattle. *Evolution*, 15:196.
- STORMONT, C. 1962. — Current status of blood groups in cattle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 97:251.
- STORMONT, C. 1967. — Contributions of blood typing to dairy science progress. *J. Dairy Sci.* 50:253.
- STRATIL, A. 1970. — Studies on proteins of seminal fluid from vasa deferentia of cock, *Gallus gallus* L. *Intern. J. Biochem.* 1:728.
- STRATIL, A. and SPOONER, R. L. 1971. — Isolation and properties of individual components of cattle transferrin: The role of sialic acid. *Biochemical genetics*, 5:347.
- SUNDQVIST, K. G. 1972. — Redistribution of surface antigens: a general property of animal cells? *Nat. New Biol.* 239:147.
- SUZUKI, Y. and STORMONT, C. 1961. — The J system of goats. *Immunogenetics Letter*, 2:41.
- TOIVANEN, P. and HIRVONEN, T. 1969. — Fetal development of red cell antigens K, k, Lu^a, Fy^a, Vel and Xg^a. *Scand. J. Haematol.* 6:49.
- TOLLE, A. 1960. — Die Blutgruppen des Rindes: 196. Verlag M.-H. Schaper. Hanover, Germany.
- VON DUNGERN, R. V. and HIRSZFELD, L. 1911. — Ueber gruppenspezifische Strukturen des Blutes III. *Z. Immunitaetsforsch. Exp. Ther.* 8:526.
- WALSH, R. J. and MONTGOMERY, C. 1947. — A new human isoagglutinin subdividing the MN blood groups. *Nature*, 160:504.
- WATKINS, W. M. 1966. — Blood group substances. *Science*, 152:172.
- WIENER, A. S. 1943. — Blood groups and transfusion. Charles C. Thomas Springfield, III.
- WIENER, A. S. 1954. — An Rh-Hr syllabus. *Modern Medical Monographs*. Grune and Stratton, New York.
- WIENER, W., LEWIS, H. B. M., MOORES, P., SANGER, R. and RACE, R. R. 1957. — A gene, y, modifying the blood group antigen A. *Vox Sang.*, 2:25.
- WILLIAMS, J. 1962. — A comparison of conalbumin and transferrin in the domestic fowl. *Biochem. J.* 83:355.