

15°/79
22/1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

ESTUDIO DEL POLIMORFISMO BIOQUÍMICO DE LOS
SISTEMAS DE TRANSFERRINAS Y ALBUMINAS EN EL
Meleagris gallopavo (variedad bronceado)

TESIS PROFESIONAL
Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
p r e s e n t a
GERARDO JULIO MOSCOSA ABAUNZA



Asesores: M.V.Z. Angel Retana Reyes
M.V.Z. Aurora Velázquez Echegaray
M.V.Z. Daniel Atilano López

México, D. F.

1 9 9 2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODO.....	5
RESULTADOS.....	8
DISCUSION Y CONCLUSION.....	9
LITERATURA CITADA.....	11
FIGURAS.....	14

RESUMEN

MOSCOSA ABAUNZA GERARDO JULIO, Estudio del polimorfismo bioquímico de los sistemas de Transferrinas y Albúminas en el Meleagris gallopavo (variedad bronceado), bajo la dirección de los M.V.Z. Angel Retana Reyes, Aurora Velázquez Echeagaray y Daniel Atilano López.

Se recolectaron muestras de suero de 90 pavos, 45 hembras y 45 machos con el fin de determinar el patrón electroforético de sistemas bioquímicos: transferrinas y albúminas séricas, mediante técnicas de electroforesis en gel de almidón.

Mediante esta técnica se identificó polimorfismo bioquímico para estos sistemas. La frecuencia fenotípica para transferrinas fueron las siguientes: AA = 0.4666, AB = 0.3111 y BB = 0.2222 y las frecuencias alélicas fueron $Tf^A = 0.6221$ y $Tf^B = 0.3777$, para las albúminas las frecuencias fenotípicas fueron: AA = 0.3, AB = 0.355 y BB = 0.3444 y las frecuencias alélicas fueron $A^A = 0.4777$ y $B^B = 0.521$.

INTRODUCCION

El guajolote es originario de América del Norte donde fué domesticado por los aztecas mucho antes del descubrimiento de América. La especie fue enviada a España en 1519 y distribuida luego a toda Europa, llegando a Inglaterra entre 1524 y 1541 (7).

La especie original de México, fue cruzada con diversas variedades, dando como resultado los tipos de pavos domésticos existentes actualmente, la explotación de esta especie constituye una especialidad en avicultura, técnicamente se denomina meleagricultura, palabra derivada de Meleagris gallopavo, nombre científico del guajolote o pavo (7,21).

En la actualidad existen 4 especies de guajolotes, las cuales son muy parecidas, y son las siguientes:

a).- Norteamericano bronceado.- Este es un animal silvestre de América del Norte llamada también Meleagris americano; b).- Silvestre americano o Meleagris pavo; c).- Salvaje medio o Meleagris intermedio sennet.- Es un intermedio entre el Norteamericano y el Mexicano; d).- Ocellata (Agriocharis ocellata).- Este guajolote se encuentra actualmente en la Península de Yucatán en estado salvaje (7,21).

En México la población de pavos se estima en 438,000 guajolotes divididos en: 400,000 en producción, 20,000 reproductores y 18,000 reproductores en crianza. Esto es debido a que esta especie sólo se consume cada fin de año y festividades especiales en provincia, en otros países esta especie se consume durante todo el año (*).

En aves como en otras especies animales, se han realizado estudios para determinar los marcadores bioquímicos por el método ----

(*).- Datos obtenidos de la Asociación Nacional de Avicultores 1989.

de electroforesis. Estos marcadores son proteínas localizadas en el plasma y en células sanguíneas, se heredan por codominancia, y son utilizados para un sinúmero de aplicaciones como características de producción, predisposición a enfermedades, exclusión de paternidad, pureza de raza, etc. (1,9,23,24).

En 1959 Smithies y Stormont, desarrollaron una técnica de electroforesis usando el almidón hidrolizado, como medio de soporte, permitiendo la separación de las partículas proteicas tanto por su tamaño como por su carga eléctrica, cuando son sometidas a un campo eléctrico y un pH inferior o superior a su punto isoeléctrico (1,8,9,12).

Entre los sistemas más estudiados se encuentran: Las transferrinas, hemoglobinas, albúminas, anhidrasa carbónica, catalasas, fosfatasa alcalina, amilasas, fosfatasa ácida, prealbúmina ácida, leucopetidasa entre otros (1,4,5,9,13).

Se han realizado estudios genéticos en pavos por: Law, Miller, Asmundson, Stormont, Garza, Quintero (7,16,20).

Quintero y col.; al analizar el sistema de albúminas en pavos, identificarán los fenotipos A, B y AB. Los cuales son resultados de la cruce de dos especies de Meleagris gallopavo y Meleagris ocellata, y que se encuentran controlados por un par de alelos codominantes autosómicos, que son Alb^A y Alb^B (22).

Garza, reporta polimorfismo para fosfatasa alcalina, en fluidos y tejidos de pavos, por medio de electroforesis en gel de almidón hidrolizado de papa (7).

En aves domésticas como codornices, faisanes, faisos, patos y crácidos, los marcadores bioquímicos más estudiados han sido las transferrinas, ovotransferrinas y conalbúminas (3,5,6,11,14,23,24).

El patrón electroforético en aves de postura y pollo de engorda, indican que ambas, tienen idéntica composición de aminoácidos, diferenciando solamente en la estructura de los carbohidratos (3,6,23).

Así mismo se ha reportado en ellas una resistencia a pesticidas, coincidiendo esto con un alto grado de polimorfismo en transferrinas (3, 8).

El sistema de transferrina (Tf), está constituido por glucoproteínas llamadas también siderofilinas. Estas son Beta-globulinas cuya función es la de transportar hierro en el plasma. Su peso molecular es de 90.000 daltones, y están compuestas por una sola cadena polipeptídica, existiendo variaciones heredables en cuanto se refiere a su movilidad electroforética, las cuales están sujetas a cambios en la estructura molecular (13).

Se ha estudiado el polimorfismo bioquímico de este sistema en palomas, codornices, patos y faisanes (13,22,24).

El sistema de Albúminas (Alb), consta de proteínas que se encuentran en mayor concentración en el suero y existen en casi todos los tejidos animales, son solubles en agua y coagulan en presencia de calor. Su peso molecular es de 68.000 daltones, y tiene un punto isoeléctrico: a un pH de 2.7, también intervienen en la regulación osmótica, el transporte de ácidos grasos, bilirrubinas y otras sustancias (10, 17, 21).

Se han realizado estudios de este sistema en pavos, faisanes, codornices y patos (3, 5, 16, 20, 22).

En los estudios ya mencionados se ha demostrado que existen diferencias polimórficas en algunas especies de aves domésticas. Para albúminas, algunos autores coinciden en que se comportan monomórficamente y no reportan polimorfismo para el sistema de transferrinas en pavos.

El presente trabajo tuvo como objetivo comprobar la existencia de polimorfismo bioquímico en los sistemas de transferrinas y albúminas en el Meleagris gallopavo (variedad bronceado) en geles de almidón hidrolizado de papa.

MATERIAL Y METODO

I.- MATERIAL BIOLÓGICO

Se obtuvieron muestras sanguíneas de 90 pavos, *Meleagris gallopavo* (variedad bronceado)

II. EXTRACCION, CONSERVACION Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Se recolectaron de 5 a 10 ml. de sangre de la vena yugular por ave en tubos vacutainer estériles identificando cada una de las muestras.

Las muestras permanecieron en refrigeración durante 24 horas. El suero se obtuvo por decantación y se conservó en congelación (20°C), hasta su uso.

III. DETERMINACION DE LOS SISTEMAS

Para la identificación de los sistemas de transferrinas y albúminas sericas, se realizó la electroforesis zonal en gel de almidón hidrolizado de papa (*). Empleando las siguientes técnicas para cada sistema.

Albúminas.

Se utilizó la técnica descrita por Garza y Ríos (23). Los sueros se colocaron en papel de cromatografía de 8 x 8 mm. dobles.

El gel se preparó con 35 gr. de almidón, 14 ml. de solución A (0.05 M. de ácido acético), 9 ml. de solución B (0.19 M Tris Hidroximetilaminometano), aforándose a 250 ml. con agua destilada para obtener un pH de 6.3.

(*) Connaught Laboratories, Ontario Canadá.

El buffer de los electrodos se preparó con 0.4 M de ácido bórico y 0.1 M de Hidróxido de sodio a un pH de 8.6.

Se trabajó poniendo un refrigerante sobre el gel. Aplicandose 30 mA. (180V), durante 10 minutos de voltaje inicial, para que penetrara la muestra (**).

Después de este tiempo se retiraron los papeles, el mA fue el mismo hasta que la banda de boratos migró 10 cm. del origen.

Se retiró el gel y se cortó longitudinalmente en dos partes, tiñéndose ambas con amido negro (al 0.5% en solución lavadora), durante 24 horas antes de realizar las lecturas.

Transferrinas.

De acuerdo a la técnica descrita por Kristjansson (17), se utilizaron 29 gr. de almidón de papa hidrolizado, diluyéndose en un buffer preparado con 20 ml. de solución de agua destilada para obtener un pH de 7.6.

El buffer de los electrodos es de 0.3 M de ácido bórico y 0.1 M de Hidróxido de sodio con un pH de 8.6.

La corriente de inserción fue de 45 - 50 mA. (300 volts), durante 15 minutos retirándose los papeles, después de esto se aumento el voltaje a 400 volts conservandose esta corriente, hasta que la muestra migro 10 cm. a partir del origen. Se retiró el gel, cortandose longitudinalmente en dos partes.

Se tiñieron con amido negro, y selavaron a chorro de agua colocandose en solución lavadora durante 24 horas, antes de realizar la lectura.

Los geles fueron interpretados con ayuda de un negatoscopio para identificar los fenotipos.

(**) Fuente de poder CAMAG tipo 6315 de 5000 volts.

Las frecuencias fenotípicas y alélicas de los sistemas de transferrinas y albúminas, se calcularón por medio de un conteo génico simple. La frecuencia fenotípica se obtuvo dividiendo el número de animales que presentan un determinado fenotipo entre el total de animales estudiados y la frecuencia alélica se obtuvo sumando los valores individuales de cada uno de los alelos presentes en esta población.

RESULTADOS

Mediante la técnica de electroforesis en gel de almidón se observaron 3 fenotipos para el sistema de transferrinas que de acuerdo con su velocidad de migración se denominaron: rápida AA, rápida-lenta AB y lenta BB (2,5).

Los fenotipos AA y BB se presentaron con 2 bandas y el fenotipo AB presenta 3 bandas fuertemente teñidas.

En el fenotipo AA se puede observar una banda anterior a la banda rápida de BB y otra a nivel de la banda rápida del fenotipo B.

El fenotipo BB presenta también 2 bandas que tienen un desplazamiento menor con respecto al fenotipo AA.

El fenotipo AB, presenta 3 bandas bien definidas, la banda rápida migra a nivel de la banda rápida de B y de la lenta de A, la banda más lenta migra a nivel de la lenta del fenotipo de B (figura 1).

La frecuencia fenotípica para transferrinas en el *Meleagris gallopavo* fueron para AA = 0.4666, AB = 0.3111 y para BB = 0.2222.

La frecuencia alélica fue $Tf^A = 0.6221$ y $Tf^B = 0.3777$ (cuadro 1).

Para el sistema albúmina fueron identificados el AA, AB, y BB. Teniendo una frecuencia fenotípica para AA = 0.3, para AB = 0.3555 y para BB = 0.3444.

La frecuencia alélica fue para el sistema A = 0.4777 y para el sistema B = 0.5221 (cuadro N° 2 y figura N° 3).

Los fenotipos encontrados para el sistema de transferrinas se aprecian en la figura N° 1, para albúminas en la figura N° 3.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se determinó polimorfismo bioquímico en muestras de suero obtenidas del Meleagris gallopavo variedad bronceado.

El criterio de interpretación para el sistema de transferrinas fue como lo describe Braend, M. y Ashton, G.C. (2,5). Denominado Tf^A a las bandas que migran más rápidamente al anodo y Tf^B -- aquellas que tienen migración más lenta, Tf^{AB} a las bandas que presentan los dos tipos de movilidad, cabe mencionar que en Tf^A y Tf^B se observan dos bandas y tres para el sistema Tf^{AB} en los geles. Estos patrones electroforéticos son parecidos a los del ganso común (Anser anser), gallina doméstica y codorniz común (Coturnix coturnix) (25; 16).

El polimorfismo para pavo variedad bronceado, no se había determinado, aunque Quintero (22), al trabajar con esta especie solo reporta polimorfismo para el sistema de albúminas y no así para el de transferrinas. Lo que no coincide con lo observado en el presente trabajo; Quintero utilizó una técnica para albúminas, la cual requiere un pH de 6.4, mientras que para el sistema de transferrinas es necesario un pH de 7.2, esto es de suma importancia debido a que las -- transferrinas tienen su punto isoeléctrico alrededor de 7.0. Otro factor que pudo haber influenciado es el tiempo de recorrido y cantidad de voltaje que aplicó en la separación de las muestras (17,22).

Garza, J. (9) determinó polimorfismo para la fosfatasa alcalina, no menciona polimorfismo para el sistema de transferrinas, en dicho trabajo se investigaron muestras de animales de líneas genéticamente puras, cuando esto sucede la homocigosis puede llegar a ser muy estrecha y por lo tanto baja la frecuencia de polimorfismo. (14,19).

Al calcular la frecuencia alélica a través de un conteo génico simple el alelo Tf^A es el de mayor frecuencia en esta población seguido por Tf^B (cuadro No. 1), considerandose característico para esta especie, no fue posible comparar la frecuencia por falta de información para este sistema. No obstante investigaciones realizadas en codorniz, gallina doméstica, crácidos y ganso común, el alelo Tf^A es el de mayor frecuencia (24,25,26).

El sistema albúmina es la fracción más abundante, soluble y con mayor velocidad de migración de las proteínas plasmáticas. Esta determinada por alelos autosómicos codominantes (22,24).

En este estudio se observaron tres fenotipos AA, AB, BB, estos resultados concuerdan con lo observado por Quintero, siendo el alelo A característico del Meleagris gallopavo y el alelo B característico de Meleagris ocellata (22).

Esta investigación revela la heterosis en el Meleagris gallopavo variedad bronceado, con base en los resultados obtenidos del -- polimorfismo de albúminas y transferrinas. Esto proporciona ventajas en cuanto a características productivas, apoyado además por la superioridad que se ha demostrado de individuos heterocigóticos sobre los homocigóticos, en estudios realizados en otras especies (26).

Es importante recalcar que uno de los objetivos de este trabajo fue dejar establecido el patrón electroforético de albúminas y transferrinas, para que en estudios posteriores se busque correlación de estos sistemas con características productivas, servirán como base para una selección genética.

LITERATURA CITADA

- 1) Ayala, F. y Garza, J.: Manual de laboratorio del curso de actualización de Inmunología Veterinaria. INIP - SARH (1979).
- 2) Ashton, G.C., Gilmour, C.A., Kiddy and F.K. Kristjansson: Proposals on nomenclature of transferrin in a farm livestock, Genetic 56 N. 3,1 (1967).
- 3) Baker, C.M.A.: Genetic of avian in a number of species. Comp. Biochem. Physiol. 20: 949-973 (1967).
- 4) Basurto, A.F.J.: Elaboración y estandarización del almidón hidrolizado de papa (*Solanum tuberosum*), para determinar marcadores bioquímicos sanguíneos, tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (1984).
- 5) Braend, M.: Nomenclature of polymorphic protein sistens. Nature. 206: 1067 (1965).
- 6) Clark, J.R.; Osuga, D.T. and Freney, R.E.: Comparison of avian egg white conalbumin. F. Biol. Chem. 238: 3621-3631 (1963).
- 7) Enciclopedia de las Ciencias 8ª ed., Ed. Cumbres., 7: 96 México, D.F. (1989).
- 8) Ferguson, A.: Geographical species variation in transferrin - and ovotransferrin polymorphism in the columbidae. Comp. Biochem Physiol. 38-434 (1971).
- 9) Garza, J.: Alkaline phosphatase polymorphism in turkey. Master - of Science tesis. University of Guelph, Canadá (1967).
- 10) Gordon, H.: Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida y almidón. Ed. Manual Moderno, México, (1975).

- 11) Granados, A.R. y V. Berovides, : aplicación de los marcadores genéticos al trabajo de mejoramiento animal, folleto de divulgación CIENI-CENSA, Universidad de la Habana Cuba (1975).
- 12) Haley, L.N.: Serum albumin polymorphism in quail and chicken - quail hybrids. J. Genetics 51: 986-987 (1965).
- 13) Ito, S., Asanu, H., Ishikawa, K., Kimura, M. and Isugai, I.: Control and population survey of transferrin in the japonese quail Anim. Blood. Biochem. Genet. 12: 145-147 (1981).
- 14) Johanson, I., Rendel, J.: Herencia de las características de la sangre, resultados básicos y aplicación genética y mejoramiento animal. Ed. Acribia Zaragoza España: 215-248 (1972).
- 15) Juárez Becerra J.C.: Polimorfismo genético de proteínas séricas de equinos y su utilización en la comprobación de paternidad. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1979).
- 16) Kimura, M., Kato, H. and Isogai, I.: Genetic Variation in a population of the wild quail (Coturnix coturnix japonica). - Anim. Blood Grps. Biochem. 13: 145-148 (1982).
- 17) Kristjansson, F.K.: genetic control of two prealbumins in pigs. J. Genetics 48: 1059-1063 (1963).
- 18) Law, G.R.J., W.J. Miller, V.S., Asmondson and Stormont: Blood groups of turkeys. J. Genetics. 51: 253-261 (1965).
- 19) Laguna, J, : Bioquímica. 2ª ed. Ed. Fournier México, D.F. (1968).

- 20) Morton, J. R., Gilmour, D.G. and Orgen, A.L.: Association of blood group and protein polymorphisms with mortality in the chicken. J. Genetics 51: 97-107 (1965).
- 21) Quintana, J.A.: Avitécnia 1ª ed., Ed. Trillas 2: 261-268 México, D.F. (1988).
- 22) Quinteros, I.R., Stevens, R.W.C., Stormont, C. and Asmundson, V.S.: Albumin phenotypes in the turkeys. Genetics 50: 579-582 (1964).
- 23) Ríos, M.E. y Garza J.: Polimorfismo de hemoglobinas raza cebú de México. II. Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guadalajara México (1968).
- 24) Santiago, C.S.J.: Determinación de marcadores bioquímicos sanguíneos (transferrinas, hemoglobinas, y albúminas séricas) en: Codorniz (Coluanix coluanix), Faisán Doméstico (Phasianus colchicus), Ganso común (Anser anser), Paloma doméstica (Columba livia) y Pato Pekín (Anas platyrhynchos). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México D.F. (1986).
- 25) Valenta, M. and A. Stratil.: Polymorphism of transferrin and conalbumin in the domestic goose (Anser anser). Anim. Blood Grps Biochem. Genet. 9: 129-132 (1978).
- 26) Williams, J.: A comparison of conalbumin and transferrins the domestic fowl. Biochem. F. 83: 355-364 (1962).

CUADRO N° 1

Frecuencia fenotípica y alélicas para transferrinas en el
Meleagris gallopavo
(variedad bronceado)

Fenotipo	Núm. de animales	frecuencia fenotípica	frecuencia alélica
AA	42	0.4666	A = 0.6221
AB	28	0.3111	B = 0.3777
BB	20	0.2222	
Total	90	.9999	0.9999

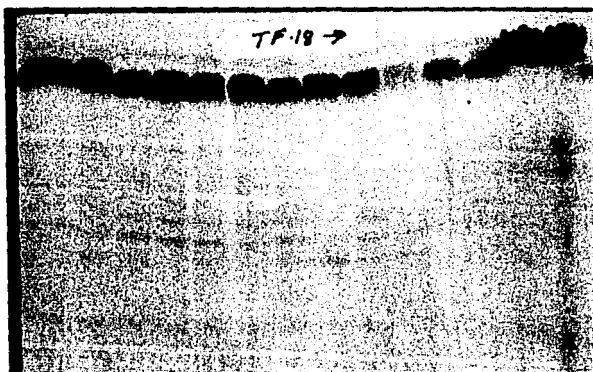
CUADRO N° 2

Frecuencia fenotípica y alélicas de albúminas en
Meleagris gallopavo
(variedad bronceado)

Fenotipo	Núm. de animales	frecuencia fenotípica	frecuencia alélica
AA	27	0,3	A = 0.4777
AB	32	0.355	B = 0.521
BB	31	0.3444	
Total	90	.9999	0.998

Figura N° 1

Fotografía que muestra los fenotipos AA,
AB y BB de transferrinas en el Meleagris
gallopavo (variedad bronceado



AA BB AB AB AB AA AB AB AB BB AA AA C C
O O
N N
T T
R R
O O
L L

Figura N° 1

Fotografía que muestra los fenotipos AA, AB, BB y de transferrinas en el Meleagris gallopavo (variedad bronceado).

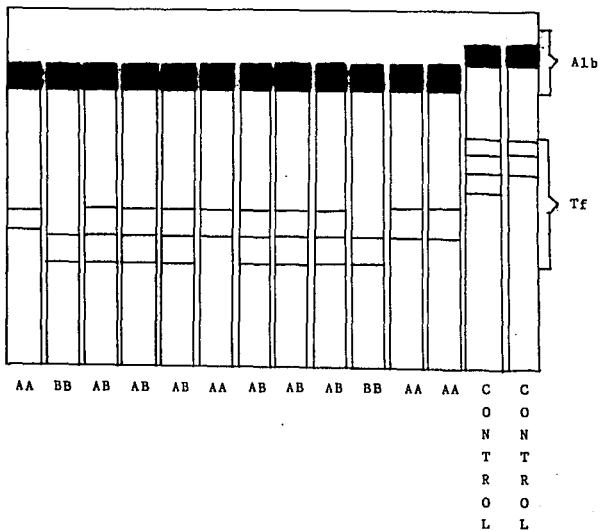
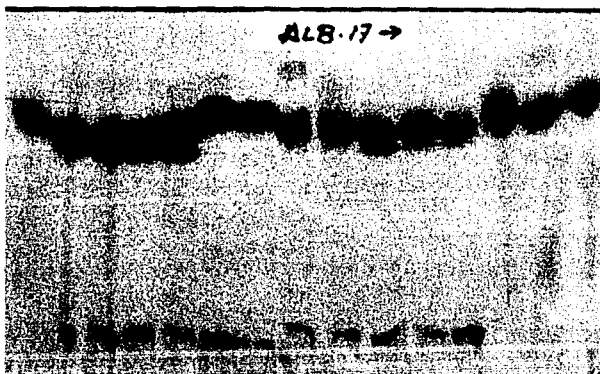


Figura N° 3

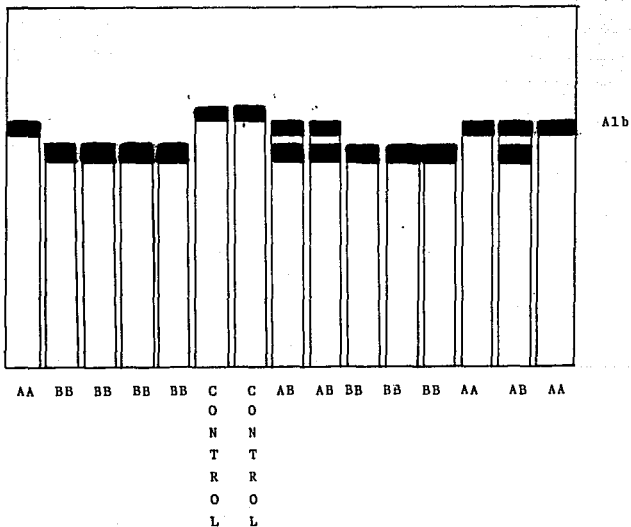
Fotografía que muestra los fenotipos de albúminas encontradas en suero de pavos *Meleagris gallopavo* (variedad bronceado).



AA BB BB BB BB C C AB AB BB BB BB BB AA AR AA
O O
N N
T T
R R
O O
L L

Figura N° 4

Fotografía que muestra los fenotipos de albúminas encontradas en suero de pavos Meleagris gallopavo (variedad bronceado)



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Medicina No. 25 A y B
Tel. 658-73-44