

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

GIUSEPPE NASCETTI, CLAUDIO GRAPPELLI, LUCIANO  
BULLINI

**Ricerche sul differenziamento genetico di *Ascaris  
lumbricoides* e *Ascaris suum***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 67 (1979), n.6, p. 457–465.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1979\\_8\\_67\\_6\\_457\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1979_8_67_6_457_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



**Genetica.** — *Ricerche sul differenziamento genetico di Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.* Nota di GIUSEPPE NASCETTI (\*), CLAUDIO GRAPPELLI (\*) e LUCIANO BULLINI (\*), presentata (\*\*) dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — The taxonomic status and the genetic differentiation of human ascaris (*Ascaris lumbricoides*) and pig ascaris (*A. suum*) was investigated by means of electrophoretic studies at the following enzyme loci: *Sdh*, *Ldh*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Idh-1*, *6-Pgdh*, *G-6-pdh*, *G-3-pdh*, *Got-1*, *Got-2*, *Adk*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Est-1*, *Est-2*, *Acph*, *Aldo*, *Tpi*, *Mpi* and *Phi*. The results obtained clearly show that *A. lumbricoides* and *A. suum* are genetically well-differentiated species, easily and surely identifiable by electrophoresis. Four enzyme loci (*Mdh-3*, *G-6-pdh*, *Est-2* and *Aldo*) out of the twenty-one tested appear to be fully diagnostic between *A. lumbricoides* and *A. suum*, while another one (*Phi*) is partially diagnostic (minimum probability of correct identification > .90).

Polymorphism according to the 1% criterion was observed at *Got-1*, *Pgm-1*, *Mpi* and *Phi* loci in both species and at *Got-2* and *Est-2* only in *A. lumbricoides*. Rare variants were observed in *A. suum* at *G-6-pdh*, *Adk* and *Est-1* loci. The observed mean heterozygosity per locus was 2.69% for *A. lumbricoides* and 3.81% for *A. suum*. These values are significantly higher than those observed in the species of the genus *Parascaris*.

The average genetic distance (*D*) between *A. lumbricoides* and *A. suum*, calculated with Nei's index, is 0.315 (genetic identity (*I*) = 0.729); such values indicate that these two species are the product of a relatively recent process of speciation (about 1.6 million years).

#### INTRODUZIONE

In un precedente lavoro (Bullini *et al.* [8]) è stato dimostrato mediante lo studio elettroforetico di vari sistemi gene-enzima che i parassiti degli equini, fino ad allora attribuiti all'unica specie *Parascaris equorum* (Goeze), appartengono in realtà a due specie distinte, geneticamente assai differenziate benchè molto simili a livello morfologico, per le quali è stato proposto di utilizzare i nomi *P. equorum* (Goeze) e *P. univalens* (Hertwig) (Biocca *et al.* [6]). I risultati ottenuti grazie all'indagine elettroforetica nel genere *Parascaris* ci hanno spinto ad affrontare con la medesima metodica il problema del differenziamento genetico di *Ascaris lumbricoides* L. e *A. suum* Goeze, due entità il cui status tassonomico è stato ed è tuttora oggetto di vivaci controversie. Questi due *Ascaris*, infatti, sono considerati da vari autori come appartenenti alla stessa specie, mentre altri li considerano sottospecie o specie distinte. A livello morfologico sono state messe recentemente in evidenza alcune differenze, riguardanti soprattutto la forma e la grandezza dei denticoli labiali (Sprent [21];

(\*) Istituto di Genetica, Facoltà di Scienze, Università di Roma.

(\*\*) Nella seduta del 15 dicembre 1979.

Abdulrachman e Lie Kian Joe [1]) e la forma delle labbra (Ansel e Thibaut [2]). Anche a livello immunologico sono state segnalate differenze tra le due entità (Kagan [13]; Logue *et al.* [14]). Tuttavia vari autori hanno continuato a negare o a mettere in dubbio la distinzione a livello specifico tra questi due taxa (per esempio Lysek [15]; Barry e O'Rourke [5]; De Carneri [11], ecc.). Il problema risulta complicato dall'esistenza, ormai ben accertata, di casi di infezione di *A. suum* nell'uomo (Crewe e Smith [9]; Phills *et al.* [18]; Goldsmid [12]; Davies e Goldsmid [10], ecc.).

Nel presente lavoro vengono esposti i risultati dello studio elettroforetico di 21 sistemi gene-enzima condotto su campioni di *A. suum* raccolti in maiali e cinghiali e di *A. lumbricoides* di provenienza umana.

Il calcolo della distanza genetica è stato effettuato con il metodo statistico proposto da Nei [16].

#### MATERIALE E METODI

##### a) *Materiale.*

Gli esemplari di *A. suum* studiati provenivano da varie località italiane e sono stati prelevati dall'intestino di maiali e cinghiali di 2-6 mesi di età. Nei maiali parassitati il numero di ascaridi è generalmente elevato: da 10 a 50 per ospite. Nei cinghiali parassitati esso è risultato di gran lunga inferiore: 1-2 individui per ospite. Non essendo stato messo in evidenza alcun differenziamento genetico tra gli ascaridi raccolti in maiali e quelli raccolti in cinghiali, essi sono stati considerati nel presente lavoro come appartenenti ad un'unica popolazione.

Gli esemplari di *A. lumbricoides* studiati provenivano da vari paesi (Italia, Egitto, India) e sono stati raccolti dopo somministrazione di vermifughi piperazinici a bambini parassitati.

##### b) *Tecniche elettroforetiche.*

Le ricerche sui sistemi gene-enzima sono state condotte mediante elettroforesi orizzontale su gel d'amido. Sono stati studiati i seguenti enzimi: sorbitolo deidrogenasi (SDH, E.C. n. 1.1.1.14), lattato deidrogenasi (LDH, E.C. n. 1.1.1.27), malato deidrogenasi (MDH, E.C. n. 1.1.1.37), isocitrato deidrogenasi (IDH, E.C. n. 1.1.1.42), 6-fosfogluconato deidrogenasi (6PGDH, E.C. n. 1.1.1.44), glucosio-6-fosfato deidrogenasi (6GPDH, E.C. n. 1.1.1.49), gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi (G3PDH, E.C. n. 1.2.1.12), glutammato ossalacetato transaminasi (GOT, E.C. n. 2.6.1.1), adenilato chinasi (ADK, E.C. n. 2.7.4.3), fosfoglucomutasi (PGM, E.C. n. 2.7.5.1), esterasi (EST, E.C. n. 3.1.1.1), fosfatasi acida (ACPH, E.C. n. 3.1.3.2), aldolasi (ALDO, E.C. n. 4.1.2.13), triosofosfato isomerasi (TPI, E.C. n. 5.3.1.1), mannosio fosfato isomerasi (MPI, E.C. n. 5.3.1.8), fosfoesoso isomerasi (PHI, E.C. n. 5.3.1.9).

Le tecniche impiegate sono, con piccole modifiche, quelle descritte da Shaw e Koen [20], Brewer [7], Selander *et al.* [19] e Ayala *et al.* [4].

Il tessuto utilizzato per lo studio elettroforetico degli enzimi è stato il sacco muscolo-cutaneo, del quale venivano omogenati meccanicamente porzioni della lunghezza di 5 mm circa in 0,5 ml di acqua distillata. Con tali omogenati venivano imbevuti pezzetti di carta Whatman n. 3 delle dimensioni di 5×5 mm, che venivano inseriti nel gel.

I loci enzimatici analizzati sono stati i seguenti: *Sdh*, *Ldh*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Idh-1*, *6-Pgdh*, *G-6-pdh*, *G-3-pdh*, *Got-1*, *Got-2*, *Adk*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Est-1*, *Est-2*, *AcpH*, *Aldo*, *Tpi*, *Mpi* e *Phi*.

Loci e alleli sono stati designati nel modo seguente: gli isozimi sono stati numerati in ordine di mobilità decrescente, a partire dal più anodico. Per gli alleli, è stato attribuito l'esponente 1.00 all'allele più comune in *A. lumbricoides*. Gli altri alleli sono stati designati con un numero, corrispondente alla distanza in mm dall'allele 1.00 dopo una corsa media (in genere 4-6 cm dalla semina). Così *Got-1*<sup>0.87</sup> è un'allele del locus codificante per la zona glutammico ossalacetico transaminasica più anodica, a migrazione più lenta dell'allele *Got-1*<sup>1.00</sup>, da cui dista dopo una corsa media circa 13 mm. Analogamente l'allele *Got-1*<sup>1.06</sup> migra più velocemente dell'allele *Got-1*<sup>1.00</sup>, da cui dista dopo una corsa media circa 6 mm. La nomenclatura adottata non implica, naturalmente, che gli alleli di *A. lumbricoides* e di *A. suum* siano necessariamente alleli del medesimo locus.

## RISULTATI E CONCLUSIONI

Lo studio elettroforetico dei 21 loci enzimatici è stato condotto su 46 individui in *A. lumbricoides* e su 180-251 individui in *A. suum* (vedi Tabelle I, II, III, IV, V, VI e VII). Esso ha dimostrato che questi due ascaridi sono specie ben differenziate dal punto di vista genetico e facilmente identificabili mediante elettroforesi. Come mostra la figura 1 quattro dei 21 loci analizzati (*Mdh-3*, *G-6-pdh*, *Est-2* e *Aldo*) sono risultati diagnostici tra *A. lumbricoides* e *A. suum*, mentre un altro (*Phi*) è risultato parzialmente diagnostico (probabilità minima di identificazione corretta > .90).

I patterns elettroforetici osservati nell'enzima malato deidrogenasi (figura 1, in alto a sinistra) e la sua determinazione genetica in *A. lumbricoides* e in *A. suum* meritano di essere brevemente discussi.

### *Malato deidrogenasi.*

Sia in *A. suum* che in *A. lumbricoides* sono presenti due zone di attività per questo enzima, una anodica (MDH supernatante), l'altra catodica (MDH mitocondriale). In *A. suum* il pattern elettroforetico appare costituito da tre bande anodiche e di una quarta banda, a migrazione catodica. Anche in *A. lumbricoides* si osservano tre bande anodiche, mentre una quarta banda migra al catodo, assai più velocemente della corrispondente banda di *A. suum*.

TABELLA I.

*Loci non polimorfici (criterio dell'1%) in Ascaris lumbricoides e in Ascaris suum.*

LOCI	ASCARIS LUMBRICOIDES		ASCARIS SUUM	
	N. individui saggiati	Allele	N. individui saggiati	Allele
Sorbitolo deidrogenasi ( <i>Sdh</i> ) . . . . .	46	1.00	180	1.00
Lattato deidrogenasi ( <i>Ldh</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
Malato deidrogenasi-1 ( <i>Mdh-1</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
Malato deidrogenasi-2 ( <i>Mdh-2</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
Malato deidrogenasi-3 ( <i>Mdh-3</i> ) . . . . .	46	1.00	251	.96
Isocitrato deidrogenasi-1 ( <i>Idh-1</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
6-Fosfogluconato deidrogenasi . . . . . ( <i>6-Pgdh</i> )	46	1.00	180	1.00
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi . . . . . ( <i>G-6-pdh</i> )	46	1.00	180	.92
Gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi . . . . . ( <i>G-3-pdh</i> )	46	1.00	180	1.00
Adenilato chinasi ( <i>Adk</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
Fosfoglucomutasi-2 ( <i>Pgm-2</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
Esterasi-1 ( <i>Est-1</i> ) . . . . .	46	1.00	251	1.00
Fosfatasi acida ( <i>AcpH</i> ) . . . . .	46	1.00	180	1.00
Aldolasi ( <i>Aldo</i> ) . . . . .	46	1.00	180	1.03
Triosofosfato isomerasi ( <i>Tpi</i> ) . . . . .	46	1.00	180	1.00

TABELLA II.

*Frequenze alleliche per il locus glutammato ossalacetico transaminasi-1 (Got-1) in Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.*

SPECIE	N. individui saggiati	ALLELI <i>Got-1</i>				% eterozigoti osservati
		.87	1.00	1.06	1.12	
<i>A. lumbricoides</i>	46	0,02	0,98	—	—	4,35
<i>A. suum</i> . . . . .	189	—	0,76	0,23	0,01	33,33

TABELLA III.

*Frequenze alleliche per il locus glutammato ossalacetico  
transaminasi-2 (Got-2) in Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.*

SPECIE	N. individui saggiati	ALLELI <i>Got-2</i>		% eterozigoti osservati
		.90	1.00	
<i>A. lumbricoides</i> . . . . .	46	0,13	0,87	8,70
<i>A. suum</i> . . . . .	251	—	1,00	—

TABELLA IV.

*Frequenze alleliche per il locus fosfoglucomutasi-I (Pgm-I)  
in Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.*

SPECIE	N. individui saggiati	ALLELI <i>Pgm-I</i>			% eterozigoti osservati
		.95	1.00	1.05	
<i>A. lumbricoides</i>	46	—	0,98	0,02	4,35
<i>A. suum</i> . . .	251	0,08	0,91	0,01	11,24

TABELLA V.

*Frequenze alleliche per il locus esterasi-2 (Est-2)  
in Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.*

SPECIE	N. individui saggiati	ALLELI <i>Est-2</i>			% eterozigoti osservati
		.90	.95	1.00	
<i>A. lumbricoides</i>	46	0,04	—	0,96	8,70
<i>A. suum</i> . . .	251	—	1,00	—	—

TABELLA VI.

*Frequenze alleliche per il locus mannosio fosfato isomerasi (Mpi)  
in Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.*

SPECIE	N. individui saggiati	ALLELI <i>Mpi</i>				% eterozigoti osservati
		.96	1.00	1.04	1.08	
<i>A. lumbricoides</i>	46	0,15	0,83	—	0,02	17,39
<i>A. suum</i> . . .	215	0,86	0,03	0,11	—	24,65

TABELLA VII.

*Frequenze alleliche per il locus fosfoesoso isomerasi (Phi)  
in Ascaris lumbricoides e Ascaris suum.*

SPECIE	N. individui saggiati	ALLELI <i>Phi</i>			% eterozigoti osservati
		.95	1.00	1.07	
<i>A. lumbricoides</i>	46	0,02	0,94	0,04	13,04
<i>A. suum</i> . . .	251	—	0,03	0,97	6,37

La determinazione genetica delle tre bande anodiche di *A. suum* è stata studiata da Zee e Zinkham [22] e da Zee *et al* [23]. Secondo tali autori la sintesi dell'MDH supernatante in questa specie è sotto il controllo di due loci distinti (che seguendo la simbologia da noi adottata indicheremo come *Mdh-1* e *Mdh-2*). Le tre bande sarebbero dimeri e risulterebbero dall'associazione delle due diverse subunità nelle tre possibili combinazioni. Cinque varianti MDH osservati da Zee *et al* [23] risultano interpretabili come il risultato di mutazioni ai loci *Mdh-1* e *Mdh-2*; lo loro scoperta confermerebbe la validità dell'interpretazione fornita da questi autori. Non diversa è verosimilmente la situazione in *A. lumbricoides*. Anche in questa specie la determinazione genetica dell'MDH supernatante sarebbe sotto il controllo di due loci distinti: *Mdh-1* e *Mdh-2*; la mancanza di varianti MDH nel materiale studiato non consente, tuttavia, di saggiare la validità di questa ipotesi.

Simile appare nelle due specie anche la determinazione genetica dell'MDH mitocondriale, il cui pattern elettroforetico è catodico e monobanda sia in *A. suum* che in *A. lumbricoides*. Si tratta verosimilmente di un singolo locus (*Mdh-3*) monomorfo e fissato nelle due specie per un allele distinto (*Mdh-3*<sup>1.00</sup> in *A. lumbricoides* e *Mdh-3*<sup>96</sup> in *A. suum*).

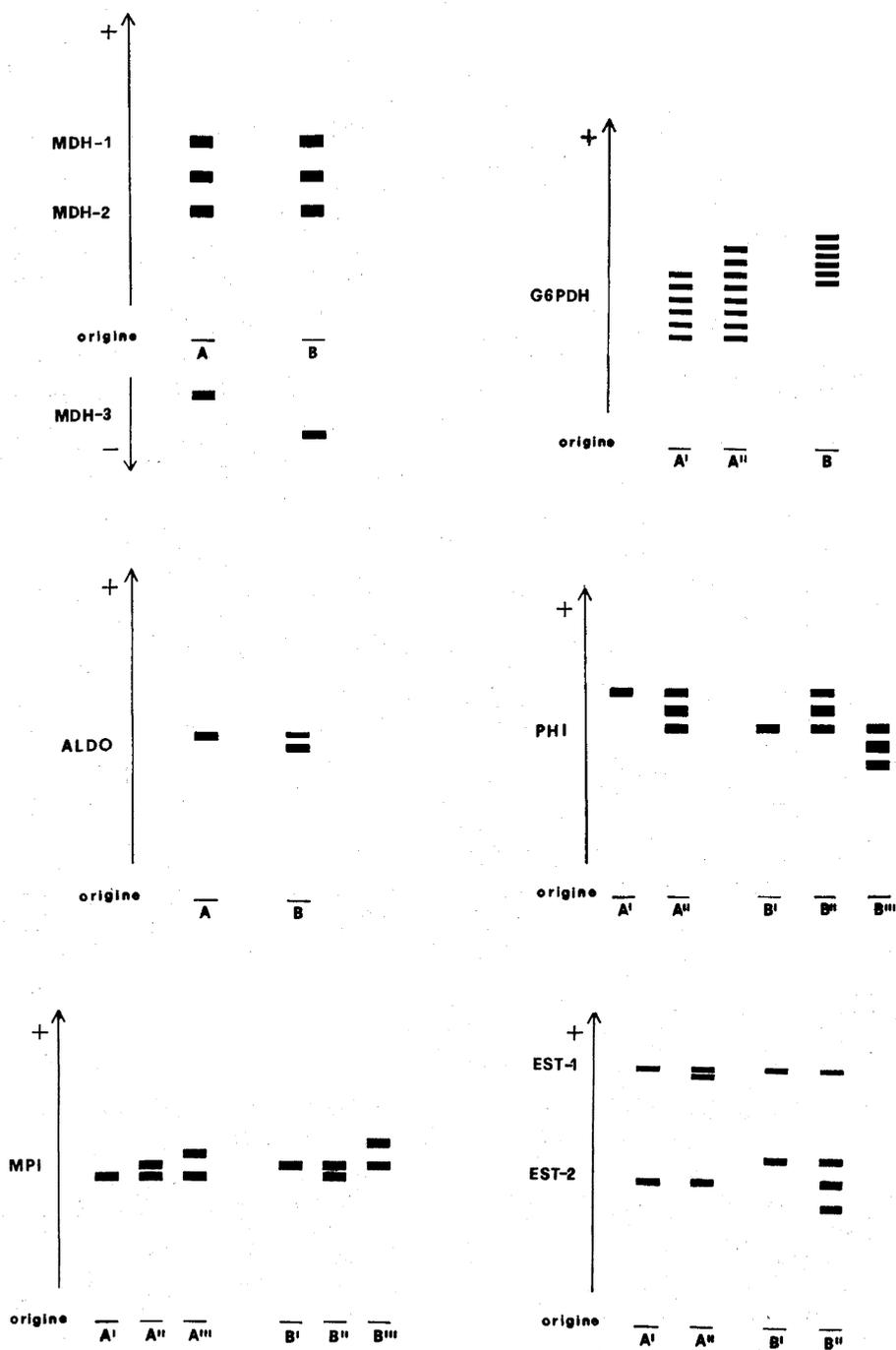


Fig. 1. — Zimogrammi della malato deidrogenasi (MDH), della glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH), dell'aldolasi (ALDO), della fosfoesoso isomerasi (PHI), della mannosio fosfato isomerasi (MPI) e dell'esterasi (EST) in *Ascaris suum* (A) e in *A. lumbricoides* (B).

Dei 21 loci enzimatici considerati, 15 sono risultati non polimorfici (criterio dell'1%) in entrambe le specie (Tabella I). Dei sei rimanenti, quattro (*Got-1*, *Pgm-1*, *Mpi* e *Phi*) sono polimorfici in entrambe le specie (Tabelle II, IV, VI, VII e figura 1), mentre gli altri due (*Got-2* e *Est-2*) sono risultati polimorfici solo in *A. lumbricoides* (Tabelle III, V e figura 1). Varianti rari sono stati osservati in *A. suum* ai loci *G-6-pdh*, *Adk* e *Est-1*.

L'eterozigosi media per locus osservata è risultata 2,69% in *A. lumbricoides* e 3,81% in *A. suum*. Questi valori, pur relativamente bassi, sono significativamente superiori a quelli osservati nel genere *Parascaris* (0,88% in *P. equorum*, 1,52% in *P. univalens*, Bullini *et al.* [8]).

La distanza genetica media (*D*) tra *A. lumbricoides* e *A. suum*, calcolata con il metodo statistico proposto da Nei [16], è risultata di 0,315 (identità genetica *I* = 0,729). Si tratta di un valore simile a quello osservato tra varie specie di invertebrati appartenenti allo stesso genere. Esso contrasta, tuttavia, molto nettamente con quello elevatissimo (*D* = 1,939) osservato tra *Parascaris equorum* e *P. univalens*, specie morfologicamente altrettanto poco differenziate tra loro quanto lo sono *A. lumbricoides* e *A. suum* (Bullini *et al.* [8]). Ciò indica che il processo di speciazione che ha dato origine ad *A. lumbricoides* e ad *A. suum* è relativamente recente (1,6 milioni di anni, applicando la formula  $t = 5 \times 10^6 D$ , proposta da Nei [17]), mentre di gran lunga più antico è stato quello che ha dato origine alle due specie del genere *Parascaris*.

#### Ringraziamenti.

Gli autori esprimono la loro gratitudine al Prof. Ettore Biocca per le proficue discussioni e gli utili suggerimenti, al Prof. Hamed M. Khalil per aver fornito utile materiale di confronto e alla Signorina Raffaella Raffa per aver collaborato alle indagini elettroforetiche.

Le ricerche sono state condotte nell'ambito e con il finanziamento del Centro di Genetica Evoluzionistica del C.N.R.

#### LAVORI CITATI

- [1] S. ABDULRACHMAN e LIE KIAN JOE (1954) - *Morphological differences between Ascaris from man and pig*. «Documente de Medicina Geographica et Tropica», 6, 342-344.
- [2] M. ANSEL e M. THIBAUT (1973) - *Value of the specific distinction between Ascaris lumbricoides Linné 1758 and Ascaris suum Goeze 1782*, «Int. J. for Paras.», 3, 317-319.
- [3] F. J. AYALA (1975) - *Genetic differentiation during the speciation process*. «Evolutionary Biology», 8, 1-78.
- [4] F. J. AYALA, J. R. POWELL, M. L. TRACEY, C. A. MOURAO e S. PEREZ-SALAS (1972) - *Enzyme variability in the Drosophila willistoni group. IV. Genic variation in natural populations of Drosophila willistoni*. «Genetics», 70, 113-139.
- [5] J. M. BARRY e F. J. O'ROURKE (1967) - *Ascariasis in pig and Man*. «Sc. proc. of Dublin Soc.», serie A, 3 (4), 39-55.

- [6] E. BIOCCHA, G. NASCETTI, A. IORI, R. COSTANTINI e L. BULLINI (1978) - *Descrizione di Parascaris univalens, parassita degli equini e suo differenziamento da Parascaris equorum*. «Acc. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sc. Fis., Mat. e Nat.», 65, 133-140.
- [7] G. J. BREWER (1970) - *An Introduction to Isozyme Techniques*. Academic Press, New York.
- [8] L. BULLINI, G. NASCETTI, S. CIAFRÈ, F. RUMORE e E. BIOCCHA (1978) - *Ricerche cario-logiche ed elettroforetiche su Parascaris univalens e Parascaris equorum*. «Acc. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sc. Fis., Mat. e Nat.», 65, 151-156.
- [9] W. CREWE e D. H. SMITH (1971) - *Human infection with pig Ascaris (A. suum)* «Ann. Trop. Med. and Paras.», 65.
- [10] N. J. DAVIES e J. M. GOLDSMID (1978) - *Intestinal obstruction due to Ascaris suum infection*. «Trans. of Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.», 72, 107.
- [11] I. DE CARNERI (1978) - *Parassitologia generale e umana*. 6<sup>a</sup> ed., Casa Editrice Ambrosiana, Milano.
- [12] J. M. GOLDSMID (1976) - *Ascariasis in Rhodesia*. «Centr. Afr. J. of Med.», 22, 220.
- [13] I. G. KAGAN (1957) - *Serum agar double diffusion studies with Ascaris antigens*. «J. of inf. dis.», 101, 11-19.
- [14] A. D. LOGUE, A. B. CHOWDHURY e E. L. SCHILLER (1963) - *Comparative serological reactions of Ascaris lumbricoides and Ascaris lumbricoides var. suum extracts in agar gel*. «Bull. of Calcutta Sc. of Trop. Med.», 11, 129-131.
- [15] H. LYSEK (1963) - *Contribution to the morphological problem of differences between Ascaris lumbricoides Linné 1758 and Ascaris suum Goeze 1782*. «Vestnik Ceskoslovenské Společnosti Zoologické», 27, 91-101.
- [16] M. NEI (1972) - *Genetic distance between populations*. «Amer. Natur.», 106, 283-292.
- [17] M. NEI (1975) - *Molecular Populations Genetics and Evolution*. North-Holland, American Elsevier, Amsterdam-New York.
- [18] J. A. PHILLS, A. J. HARROLD, G. V. WHITEMAN e L. PERELMUTTER (1972) - *Pulmonary infiltrates, asthma and eosinophilia due to Ascaris suum infection in man*. «New England J. of Med.», 286, 965.
- [19] R. K. SELANDER, M. H. SMITH, S. Y. YANG, W. E. JOHNSON e J. B. GENTRY (1971) - *Biochemical polymorphism in the genus Peromyscus. I. Variation of the old-field mouse (Peromyscus polionotus)*. Studies in Genet., Univ. Texas publ. N. 7103. 49-90.
- [20] C. R. SHAW e A. L. KOEN (1958) - *Starch gel zone electrophoresis of enzymes*. In: *Chromatographic and Electrophoretic Techniques* Vol. 2, 2<sup>nd</sup> ed., I. Smith e J. Wiley editors, New York.
- [21] J. F. A. SPRENT (1952) - *Anatomical Distinction between Human and Pig Strains of Ascaris*. «Nature», 170, 627-628.
- [22] D. S. ZEE e W. H. ZINKHAM (1968) - *Malate dehydrogenase in Ascaris suum: Characterization, ontogeny and genetic control*. «Arch. Biochem. Biophys.», 126, 574.
- [23] D. S. ZEE, H. ISENSEE e W. H. ZINKHAM (1970) - *Polymorphism of Malate Dehydrogenase in Ascaris suum*. «Biochem. Genet.», 4, 253-257.