

Polimorfismo genético de los sistemas de albúminas, hemoglobinas y transferrinas en ganado híbrido Holstein-Cebú en el trópico húmedo

A. Guadalupe Rebollo Avila*
Rebeca Acosta Rodríguez**
Aurora Velázquez Echegaray***
Daniel Atilano López***
Hugo Pérez Ramírez**

Resumen

Se estudiaron 279 muestras sanguíneas de bovinos híbridos 1/2, 3/4, 5/8 y porcentaje no determinado Holstein x Cebú, (n = 71, 140, 43 y 25, respectivamente). Los fenotipos de los sistemas sanguíneos polimórficos en albúminas (Al), hemoglobinas (Hb) y transferrinas (Tf) fueron obtenidos por electroforesis zonal en geles de almidón. Las frecuencias fenotípicas y genotípicas encontradas en animales F1 fueron: Al-F = 0.67, Al-S = 0.34, Hb-A = 0.84, Hb-B = 0.16, Tf-A = 0.34, Tf-D = 0.54 y Tf-E = 0.12. En 3/4 H 1/4 C fueron: Al-F = 0.81, Al-S = 0.19, Hb-A = 0.90, Hb-B = 0.09, Hb-F = 0.01, Tf-A = 0.26, Tf-D = 0.64 y Tf-E = 0.10, y en 5/8 H 3/8 C: Al-F = 0.73, Al-S = 0.27, Hb-A = 0.74, Hb-B = 0.24, Hb-F = 0.02, Tf-A = 0.42, Tf-D = 0.49 y Tf-E = 0.09. Se encontró que los alelos cuya descendencia proviene del *Bos taurus*, manifiestan una elevada frecuencia de aparición. Los resultados obtenidos fueron altamente significativos (P < 0.001) en cuanto a la independencia de los genotipos con la prueba de Ji cuadrada.

Introducción

El estudio de este polimorfismo, conjuntamente con el de los grupos sanguíneos, ha contribuido a conocer las estructuras y frecuencias genéticas que caracterizan las principales razas de la especie bovina y sus cruza.¹⁷

Se denomina polimorfismo genético a la existencia de dos o más variantes genéticas de un rango determinado en una frecuencia no menor del 1%

en una misma población.¹² Todavía no están claramente definidas las causas del amplio polimorfismo que presentan diversos caracteres de la sangre. Sin embargo, el que exista, presupone que ciertos antígenos sanguíneos y variantes proteínicas se relacionan con la aptitud productiva como producción de leche, fertilidad y tasa de crecimiento,^{4, 6, 12, 19} así como los que se transmiten por codominancia y que en la práctica se pueden utilizar para estudios de pureza de raza, grado de consanguinidad, atribución o exclusión de paternidad, frecuencia de alelos en un hato y presencia de genes indeseables, así como la identificación de individuos heterocigóticos.^{3, 4, 6, 15, 19, 20}

En animales domésticos algunos de los grupos sanguíneos solubles que se han estudiado son: hemoglobinas, amilasas, esterases, albúminas, anhídrido carbónico, haptoglobulinas, transferrinas, leucinoaminopeptidasas y otras. Estos grupos sanguíneos se pueden separar por métodos electroforéticos.^{2, 3, 4, 14, 18, 19, 20}

Dentro del polimorfismo bioquímico en la albúmina del ganado bovino se conocen alelos codominantes de tres tipos: de tipo rápido (F) en razas europeas y en exclusiva en la Holstein, de tipo lento (S) que se encuentra sobre todo en ganado descendiente del *Bos indicus*¹⁸ y un tercero más lento (C) encontrado en el ganado del este de África.

La hemoglobina de tipo A tiende a encontrarse con mayor frecuencia en el bovino europeo, mientras el tipo B es frecuente en ganado Cebú, por lo que puede usarse como un marcador genético de interés.^{1, 3, 6}

También se han encontrado hemoglobinas de tipo C, D y F.¹⁸ La hemoglobina F se encuentra únicamente en recién nacidos, se sabe que se alcanza entre un 41 y 100% del total de la hemoglobina en becerros y que disminuye rápidamente después del nacimiento, siendo reemplazada por el tipo A que es el más común en adultos, no siendo así el tipo B.²² Los becerros pueden nacer con la mitad o tres cuartos de la hemoglobina fetal hasta encontrarse en un 1% al final del primer año de vida.^{6, 18, 22}

Recibido para su publicación el 2 de febrero de 1993

Parte de este trabajo corresponde a la tesis de licenciatura del primer autor.

* Sección Genética. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, Martínez de la Torre, Veracruz.

** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México 04510, México, D.F.

*** Laboratorio de Inmunología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

En México se han detectado los alelos A, D1, D2 y E en el sistema transferrinas; la presencia del alelo D se ha intentado asociar con la producción de leche en bovinos Holstein, así como del alelo E con la resistencia al calor.³

En el presente trabajo se determinó el polimorfismo genético de tres sistemas sanguíneos: albúminas, hemoglobinas y transferrinas en tres diferentes cruces de Holstein-Cebú, lo que se considera de gran ayuda para realizar futuros trabajos donde se asocian estos sistemas polimórficos con características de interés económico.

Material y métodos

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), localizado en el municipio de Tlapacoyan en el estado de Veracruz, a 20°4' N y 97° 3' 0" a 151 msnm, temperatura media anual de 23.5°C y precipitación pluvial media de 1840 mm. Su clima corresponde al tipo Af (m) (w) (e), cálido húmedo con lluvias todo el año, con un agroecosistema de bosque subtropical semisiempreverde.⁵

Se estudiaron 279 bovinos híbridos de los cuales 71 correspondieron al genotipo 1/2 Holstein-1/2 Cebú, 140 a 3/4 Holstein-1/4 Cebú, 43 a 5/8 Holstein-3/8 Cebú y 25 a no determinados. Todos los animales se mantuvieron bajo un sistema de pastoreo rotacional en pasto Estrella Sto. Domingo con suplementación de sales minerales a voluntad y bajo el programa de medicina preventiva establecido en el CEIEGT.¹⁰

De cada animal se tomaron dos muestras sanguíneas por punción en la vena coccígea, la primera se tomó en tubos estériles sin anticoagulantes y la segunda en tubos estériles con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante. Se identificó la muestra de cada animal con el número de tatuaje correspondiente. Las muestras sanguíneas se mantuvieron en refrigeración¹⁸ hasta ser trabajadas en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Virología e Inmunología de la FMVZ de la UNAM.

La identificación de los grupos sanguíneos solubles se hizo por electroforesis zonal en gel de almidón.² Se convirtió almidón de papa granulado a la forma de gel usado en electroforesis produciendo una hidrólisis parcial.¹¹ La cantidad de almidón, el pH de las soluciones amortiguadoras, la cantidad y duración de la corriente eléctrica, así como la tinción, variaron según la técnica empleada para cada sistema estudiado.²

Para el análisis de la hemoglobina, albúmina y transferrinas se utilizaron las técnicas descritas por Ayala y Garza.² Los geles fueron interpretados por medio de observaciones directas con un negatoscopio, tomando como base los patrones electroforéticos internacionales establecidos para cada uno de los grupos sanguíneos solubles.¹⁸

Para establecer las líneas paternas de animales de padre no identificado se determinó el polimorfismo genético del pie de cría.^{9, 16}

La información referente a los fenotipos observados en albúminas, hemoglobinas y transferrinas, así como identificación familiar, genotipo y sexo de los animales fueron analizados por medio de la técnica de Ji cuadrada citada por Gadoud y Surdeau⁹ y Nguyen.¹⁶ Las diferencias de aparición de las frecuencias de los genotipos fueron analizadas por el procedimiento GLM de SAS.²¹

Resultados

La distribución de los animales estudiados por genotipo y sistemas, se observa en el Cuadro 1. En este estudio se identificó hemoglobina de tipo fetal F en animales cuya edad fluctuaba entre 4 y 6 semanas,

Cuadro 1
NUMERO DE ANIMALES ESTUDIADOS POR
GENOTIPO Y SISTEMA POLIMORFICO

Genotipo	Sistemas		
	ALB ¹	HB ¹	TF ¹
F1	71	71	71
3/4	140	135	140
5/8	43	42	43

1 ALB = Albumina HB = Hemoglobina TF = Transferrina

considerando a dicha variante de la hemoglobina como anormal, ya que estudios previos indican que la hemoglobina fetal tarda en desaparecer de la sangre entre 3 y 10 semanas después del nacimiento.²²

La distribución de las frecuencias génicas para los alelos correspondientes a los sistemas de las proteínas estudiadas, aparece en los Cuadros 2, 3 y 4.

Los resultados de albúminas en este estudio (Cuadro 2) indican que el genotipo heterocigótico se presenta con mayor frecuencia para F1 que para 5/8 H y 3/4 H (0.68 vs 0.49 y 0.36, respectivamente).

Para el sistema hemoglobina se observa una elevada frecuencia del tipo AA en los tres genotipos estudiados: F1, 3/4 H y 5/8 H (0.68, 0.82 y 0.55); el tipo BB tuvo un

Cuadro 2
FRECUENCIAS OBSERVADAS EN EL SISTEMA ALBUMINAS

Genotipos	N	Frecuencia de genotipos*			Frecuencia de alelos	
		FF	FS	SS	F	S
F1	71	0.32 (23)	0.68 (48)	0.00 (0)	0.67	0.34
3/4	140	0.63 (88)	0.36 (51)	0.01 (1)	0.81	0.19
5/8	43	0.49 (21)	0.49 (21)	0.02 (1)	0.73	0.27

*Los números entre paréntesis muestran el número de animales con ese fenotipo

valor sumamente bajo (0.00, 0.02 y 0.07, respectivamente). Sin embargo, el número de heterocigóticos no es tan elevado (AB: 0.32, 0.15 y 0.33). El heterocigótico AF (0.00, 0.02 y 0.05) fue bajo, pero no se sabe si será AB o AA una vez que el tipo fetal desaparezca (Cuadro 3).

En el genotipo 1/2 Holstein-1/2 Cebú el sistema transferrinas tipo AD tuvo la frecuencia más alta (0.38);

cruza. Para el genotipo 5/8 no se encontraron informes sobre la frecuencia de este alelo, por lo que no se puede comparar. Empero en este trabajo fueron iguales para el tipo FF, así como para el FS con un valor bajo para el tipo SS (Cuadro 2).

Los estudios informan que hay ciertas ventajas de productividad para animales de genotipo FS;¹⁹ en este

Cuadro 3
FRECUENCIAS OBSERVADAS EN EL SISTEMA HEMOGLOBINAS

Genotipo	N	Frecuencia de genotipos*				Frecuencia de alelos		
		AA	AB	AF	BB	A	B	F
F1	71	0.68 (23)	0.32 (23)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.84	0.16	0.00
3/4	135	0.82 (20)	0.15 (20)	0.02 (3)	0.02 (2)	0.90	0.09	0.01
5/8	42	0.55 (14)	0.33 (14)	0.05 (3)	0.07 (3)	0.74	0.24	0.02

*Los números entre paréntesis muestran el número de animales con ese fenotipo.

en segundo lugar estuvo el tipo DD con 0.27 (Cuadro 4). El genotipo 5/8-3/8 Cebú (62% H) nuevamente presentó con mayor frecuencia el tipo AD (0.46), seguido del tipo DD (0.21) (Cuadro 4).

Los resultados mostraron una diferencia altamente significativa ($P < 0.001$) entre la aparición de las frecuencias de cada sistema en cada genotipo, es decir la frecuencia de las albúminas, por ejemplo, no se presentó de la misma manera en F1, 3/4 o 5/8.

Discusión

Los estudios sobre el sistema albúminas son limitados por ser poco común su polimorfismo en el ganado europeo. Sin embargo, en ganado híbrido se tienen estudios⁸ donde se encontró un número altamente

trabajo, el genotipo F1 presentó la mayor frecuencia. Ello resulta de interés para estudios posteriores sobre la relación de dicho sistema con características de productividad.

Para el sistema hemoglobina se observa una elevada frecuencia del tipo AA en los tres cruces estudiados, donde el tipo BB tuvo un valor sumamente bajo (Cuadro 3); tales datos concuerdan con los trabajos citados por Fernández y Granado.⁸ Sin embargo, el número de heterocigóticos no es tan elevado (Cuadro 3) como en el caso de los autores citados.

Algunos estudios plantean un mejor comportamiento productivo en vacas con genotipo AA, mayor porcentaje de grasa en leche para el genotipo AB, y menor intervalo interpartal para el genotipo BB; además, se

Cuadro 4
FRECUENCIAS OBSERVADAS EN EL SISTEMA TRANSFERRINAS

Genotipo	N	Frecuencia de genotipos*					Frecuencia de alelos			
		AA	AD	AE	DD	DE	EE	A	D	E
F1	71	0.11 (8)	0.38 (27)	0.07 (5)	0.27 (19)	0.17 (12)	0.00 (0)	0.34	0.54	0.12
3/4	140	0.06 (9)	0.35 (49)	0.05 (7)	0.39 (55)	0.14 (19)	0.01 (1)	0.26	0.64	0.10
5/8	43	0.14 (6)	0.46 (20)	0.09 (4)	0.21 (9)	0.09 (4)	0.00 (0)	0.42	0.49	0.09

*Los números entre paréntesis muestran el número de animales con ese fenotipo

significativo de alelos S en vacas 3/4 Holstein-1/4 Cebú. Esto no concuerda con los resultados de este estudio (Cuadro 2), donde la frecuencia más alta fue para el alelo F, lo cual se apeg a las frecuencias encontradas para Holstein,⁷ así como los informes de Fernández y Granado⁸ para su cruce 3/4 Cebú-1/4 Holstein, donde la elevada frecuencia del alelo S es más factible por el mayor porcentaje de sangre Cebú presente en esa

asocia al alelo B con mayor tolerancia ecológica y con susceptibilidad a la tripanosomiasis,¹⁹ por lo que resultaría interesante profundizar sobre este sistema en los híbridos trabajados.

Los resultados en las frecuencias de transferrinas concuerdan con el estudio de Berovides y Granado en 1978, citados, por Fernández y Granado,⁸ en donde se señala una elevada frecuencia para el alelo D; no obstante, estos

autores informan en su cruce 3/4 Holstein-1/4 Cebú la frecuencia más alta para el alelo E, siendo que en este trabajo fue el alelo que presentó la menor frecuencia.

En la literatura se encuentran trabajos que señalan ventajas del alelo D en homocigosis en la producción de leche,¹⁹ así como mejor fertilidad,¹³ sin olvidar que hablan de una mayor resistencia al medio ambiente de los animales portadores del alelo E.¹⁹

En términos generales, las frecuencias observadas en los fenotipos de los tres sistemas denotan una clara tendencia hacia el *Bos taurus* en los genotipos estudiados. Sin embargo, queda por relacionar los sistemas con los caracteres de importancia económica y adaptación al medio que proporciona la raza *Bos indicus*.

Es necesario continuar con investigaciones referentes a las posibles asociaciones de estos grupos sanguíneos solubles con características cuantitativas en ganado híbrido, para que se pueda determinar si la asociación no es netamente aditiva, como en el caso de las razas puras, o si ésta pudiera deberse al efecto heterocigótico propio del hibridismo (Cuadro 5).

Cuadro 5
GRUPOS SANGUINEOS SOLUBLES DE LOS SEMENTALES

Identificación	ALB ¹	HB ²	TF ³
1	FS	AA	AD
2	FF	AB	DD
3	FS	AB	AD
4	FF	AB	AD
5	FS	AB	AD
6	FS	AB	AD
7	FS	AB	AD

1 = Albúmina 2 = Hemoglobina 3 = Transferrina

Con base en lo anterior, se determinó la necesidad de aumentar en futuros estudios el número de sistemas polimórficos a estudiar para obtener un porcentaje de seguridad considerable, debido a que con únicamente tres sistemas sólo se logró identificar al padre de un individuo (7%) excluyéndose a seis de los siete posibles padres (cuadro 6). Los sistemas que pueden incluirse son: anhidrasa carbónica, estereasas séricas, prealbúminas y postransferrinas.²³

Se concluye también que las transferrinas EE relacionadas con la adaptación al medio no se encontraron en alta frecuencia en animales 5/8 Holstein × 3/8 Cebú, como se esperaba.

Abstract

Two hundred seventy nine blood samples from crossbred cattle 1/2, 3/4 and 5/8 Holstein × Zebu were studied. Phenotypes of polymorphic blood systems in albumins (Al), hemoglobins (Hb) and transferrins (Tf) were obtained by zonal electroforesis in starch gels. Blood systems were used for a paternity test in animals with undetermined genotype. The phenotype and genotype frequencies in F1 were: Al-F = 0.67, Al-S = 0.34, Hb-A = 0.84, Hb-B = 0.16, Tf-A = 0.34, Tf-D = 0.54, Tf-E = 0.12; in 3/4H 1/4Z: Al-F = 0.81, Al-S = 0.19, Hb-A = 0.90, Hb-B = 0.09, Hb-F = 0.01, Tf-A = 0.26, Tf-D = 0.64, Tf-E = 0.10; and in 5/8H 3/8Z: Al-F = 0.73, Al-S = 0.27, Hb-A = 0.74, Hb-B = 0.24, Hb-F = 0.02, Tf-A = 0.42, Tf-D = 0.49 and Tf-E = 0.09. It was found that alleles which have their origin from *Bos taurus*, appear

Cuadro 6
PRUEBA DE ATRIBUCION O EXCLUSION DE PATERNIDAD

IDENT ¹	Hijos			Madres			Sementales ⁵						
	ALB ²	HB ³	TF ⁴	ALB ²	HB ³	TF ⁴	1	2	3	4	5	6	7
1	FF	AA	DD	FF	AA	DD	x	x	x	x	x	x	x
2	FS	AA	DD	FF	AA	DD	x	x	x	x	x	x	x
3	FF	AA	DE	FS	AA	DD							x
4	FF	AA	AA	FS	AA	AE	x	x	x	x	x	x	x
5	FF	AB	AD	FS	AA	AA	x	x	x	x	x	x	x
6	FF	AA	AA	FS	AA	AD	x	x	x	x	x	x	x
7	FF	AA	AD	FS	AA	AA	x	x	x	x	x	x	x
8	FF	AA	AA	FF	AA	AD	x	x	x	x	x	x	x
9	FF	AA	DD	FF	AA	AD	x	x	x	x	x	x	x
10	FS	AB	AD	FF	AB	AA	x	x	x	x	x	x	x
11	FS	AA	AA	FS	AA	AA	x	x	x	x	x	x	x
12	FF	AA	AA	FF	AA	AA	x	x	x	x	x	x	x
13	FF	AA	AD	FF	AA	AA	x	x	x	x	x	x	x
14	FF	AA	DD	FS	AA	DE	x	x	x	x	x	x	x
15	FF	AB	AD	FS	AB	AD	x	x	x	x	x	x	x
16	FF	AA	DD	FS	AA	DD	x	x	x	x	x	x	x
17	FF	AA	DD	FF	AA	DD	x	x	x	x	x	x	x
18	FF	AA	DD	FS	AA	AE	x	x	x	x	x	x	x
19	FF	AA	DD	FF	AA	DE	x	x	x	x	x	x	x
20	FF	AB	AA	FF	AA	AD		x	x	x	x	x	x
21	FS	AB	DE	FF	AA	AE			x		x	x	x
22	FF	AA	DD	FF	AB	DD	x	x	x	x	x	x	x
23	FS	AA	DD	FF	AA	DD	x		x		x	x	x
24	FF	AA	DD	FS	AA	DE	x	x	x	x	x	x	x
25	FF	AA	AD	FS	AA	DE	x	x	x	x	x	x	x

1 = Identificación 2 = Albúmina 3 = Hemoglobina 4 = Transferrina 5 = Posible padre

frequently. Results were highly significant as far as the independency of genotypes. As a test for paternity exclusion, the transferrin system was not adequate, since it was not possible to discriminate between sires, because their progenies had similar alleles.

Literatura citada

1. Arochi, B.E.: Determinación de polimorfismo bioquímico de hemoglobinas, transferrinas y albúminas séricas en "minivacas" Cebú (*Bos indicus*) mediante electroforesis en gel de almidón. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
2. Ayala, F. y Garza, R.J.: Determinación de Grupos Sanguíneos Solubles en Animales Domésticos. Manual de Laboratorio del Curso de Actualización de Inmunología Veterinaria. *INIP-SARH*, México, D.F., 1977.
3. Azuara, B.P.: Selección genética de ganado criollo mediante la determinación de sus grupos sanguíneos solubles. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1982.
4. Basurto, A.F.J.: Elaboración y estandarización del almidón hidrolizado de papa (*Solanum tuberosum*) para determinar marcadores bioquímicos sanguíneos en animales. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1984.
5. CEIEGT: Boletín Informativo del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1985/1986.
6. Durán, C.J.O.: Polimorfismo genético de hemoglobina, transferrinas y albúmina en ganado resistente y susceptible a las infestaciones por garrapatas *Boophilus microplus*. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1981.
7. Ezcurra, J.L., Mitat, J. y Díaz, S.: Tipificación de albúminas en algunas razas de bovinos en Cuba. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 3: 151-154 (1972).
8. Fernández, H.M. y Granado, A.: Polimorfismo de los sistemas transferrina (Tf), hemoglobina (Hb) y albúmina (Al) en vacas 3/4 Cebú x 1/4 Holstein. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 12: 189-196 (1981).
9. Gadoud, R. et Surdeau, J.: Génétique et Sélection Animales Collection d' Enseignement Supérieur Agricole. *J. B. Bailliere*, Paris, France, 1975.
10. García, N.E., Orozco, T.R. y Aluja, S.A.: Evaluación de un programa de medicina preventiva en una explotación de doble propósito en el trópico húmedo. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaría en México. México, D.F. 1986-1987. *INIP-SARH*, México, D.F. (1986).
11. Gordon, H.: Electroforesis de Proteínas en Geles de Poliácridamida y Almidón. *El Manual Moderno*, México, D.F., 1975.
12. Granado, A. y Berovides, V.: Segregación de alelos del locus transferrina (Tf) en sementales Holstein. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 10: 25-28 (1979).
13. Granado, A. y Menchaca, M.: Relación entre tipos de transferrinas y la producción lechera en el ganado FI (Holstein-Cebú). *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 9: 39-44 (1978).
14. Jamieson, A.: The genetics of transferrins in cattle. *Hereditas*, 20: 419-442 (1965).
15. Mandal, B.K. and Dattagupta, R.: Serum albumin polymorphism and its relationship to economic traits in crossbred cattle. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.*, 16: 229-233 (1985).
16. Nguyen, T.C.: Polimorphisme sanguine du mouton et distance génétique entre les races. 5ème Journées de la Recherche Ovine et Caprine. Paris, France. 1979. 245-254. *INRA-ITOVIC*. Paris, France (1979).
17. Pascual, C. y Pérez, B.O.: Caracterización del Cebú cubano en la región occidental de Cuba mediante el polimorfismo genético bioquímico. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 16: 285-291 (1985).
18. Pijoán, A.C.: Polimorfismo genético de albúminas, transferrinas, fosfatasa alcalina y hemoglobinas del ganado de lidia mexicano. Tesis de licenciatura. *Esc. Nac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1969.
19. Ronda, R., Granado, A., Berovides, V. y Pérez, B.O.: Fundamentaciones del uso de los marcadores genéticos en la selección animal. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 10: 81-94 (1979).
20. Sandoval, V.F.C.: Estudio del polimorfismo genético de algunas proteínas sanguíneas en bovinos criollos mexicanos. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1981.
21. SAS Institute Inc.: SAS/STAT User's Guide: Statistics. *SAS Institute Inc.*, Cary, North Carolina, 1982.
22. Swenson, J.M.: Physiological properties and cellular and chemical constituents of blood. In: *Duke's Physiology of Domestic Animal*. Edited by: Melvin, J.S., 14-35. *Cornell University Press*, London, 1977.
23. Vergara, O.J.F.: Comprobación de la paternidad en equinos por determinación electroforética de 6 sistemas de grupos sanguíneos solubles. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1975.