

# Polimorfismo bioquímico de hemoglobinas, transferrinas y albúminas séricas en minivacas Cebú (*Bos indicus*) mediante electroforesis en gel de almidón en México

Estela Arochi Barajas\*  
Aurora Velázquez Echegaray\*  
José Manuel Berruecos Villalobos\*\*

## Resumen

Se recolectaron muestras sanguíneas (plasma y eritrocitos) de 14 minivacas Cebú (*Bos indicus*), correspondieron a 5 machos y 9 hembras, con el fin de determinar el patrón electroforético de tres sistemas bioquímicos polimórficos mediante técnicas de electroforesis zonal en gel de almidón. Como proteínas polimórficas se presentaron las transferrinas y las hemoglobinas de los animales estudiados, mientras que las albúminas séricas mostraron un solo patrón electroforético. Los alelos encontrados con mayor frecuencia fueron: De transferrinas, el alelo Tfd; de hemoglobinas, el alelo HbB y en albúminas sólo el AB. Se detectaron ciertas diferencias y semejanzas con el patrón electroforético tradicional ya establecido para estas proteínas en los bovinos Cebú.

## Introducción

La población bovina del mundo se ha agrupado principalmente en dos especies: *Bos indicus* y *Bos taurus*. Sus características<sup>3,15</sup> se han establecido por medio de la inmunogenética, al estudiar los sistemas bioquímicos polimórficos, con el uso de la técnica de electroforesis, y obtener así, un "polimorfismo bioquímico"; es decir, se detectan las formas múltiples de proteínas que se hallan presentes en individuos de la misma especie.<sup>21</sup>

Los sistemas bioquímicos polimórficos, también denominados proteínas sanguíneas, marcadores bioquímicos o grupos sanguíneos solubles, están determinados genéticamente por alelos autosómicos concomitantes y se expresan como proteínas en el plas-

ma o interior de las células sanguíneas. Las variaciones entre estas proteínas, y que determinan el polimorfismo, se deben a la abundancia de aminoácidos en su configuración.<sup>13,20</sup>

En 1937, Tiselius desarrolló la electroforesis, ésta constituye un método analítico que permite separar las fracciones proteínicas al aplicar una corriente eléctrica continua, aprovechando el potencial eléctrico de las partículas a un pH determinado. El patrón electroforético o fenograma, que presentan las diversas proteínas, depende de sus cargas electrostáticas, configuración, peso molecular y, en cierto grado, del sistema sobre el cual se realiza.<sup>21</sup>

En 1955, Smithies estableció la técnica de electroforesis en gel de almidón al realizar la separación de proteínas séricas humanas. A partir de entonces diversos investigadores la emplearon para determinar variantes genéticas, en algunos sistemas se detectó polimorfismo bioquímico, por ejemplo: Hemoglobinas, transferrinas, albúminas, prealbúminas, posalbúminas, anhidrasa carbónica, catalasa, esterasas, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, ceruloplasmina, etc., en varias especies domésticas y silvestres.<sup>21</sup>

La observación de las frecuencias génicas de las variantes de las diferentes proteínas sanguíneas y de su polimorfismo bioquímico han servido para obtener información taxonómica y filogenética de diversas poblaciones animales, así como para comparar y definir razas y poblaciones específicas.<sup>3</sup>

En 1968, Buschmann y Schmid publicaron un trabajo de los sistemas bioquímicos en animales domésticos; describieron ocho sistemas polimórficos en la sangre y cinco en leche de bovinos.<sup>2</sup>

Con el fin de establecer la "clasificación química" se han estudiado diferentes frecuencias génicas de marcadores bioquímicos en bovinos de origen europeo, hindú y africano.<sup>3,16</sup> Los datos obtenidos apoyan las diferentes divisiones geográficas y morfológicas del ganado, en este sentido se establecen dos grupos raciales y se confirma la existencia de dos especies diferentes, *Bos taurus* y *Bos indicus*.<sup>3,16</sup> Las investigaciones destacan una delimitación entre estos individuos con base en su polimorfismo y se proporciona una medida genética más precisa.

Recibido para su publicación el 14 de octubre de 1994.

Parte de este trabajo corresponde a la tesis de licenciatura de la primera autora.

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

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

Los sistemas bioquímicos polimórficos que proveen mayor información para caracterizar las distintas razas son transferrinas, albúminas séricas y hemoglobinas.<sup>3,8,9,11,13,16</sup>

Las transferrinas (Tf) son glicoproteínas séricas con peso molecular de 80,000-90,000 y coeficiente de difusión de 5.2, transportan hierro en el organismo, representan una hetaglobulina con significativa importancia en la hematopoyesis. La variación en estas proteínas se debe a la presencia de alelos codominantes múltiples en un mismo *locus*.<sup>21</sup> Se conocen 10 diferentes alelos de transferrinas en ganado bovino; destacan tres principales que son TfA, Tfd y Tfe. El alelo transferrina E se presenta con mayor frecuencia génica en ganado Cebú de India y Africa; se han detectado además, dos alelos adicionales de transferrinas: Tfb y Tff.<sup>3,5,8,11,13,16</sup> Ashton y Hewtson sugieren que el polimorfismo de transferrinas puede relacionarse con la tolerancia al clima en ganado bovino. En investigaciones posteriores se menciona la elevada frecuencia de Tfe en razas célticas de *Bos taurus* y razas hindúes y africanas de *Bos indicus*, expuestas todas a condiciones climáticas no favorables.<sup>1</sup> El sistema de transferrinas se emplea para la verificación de paternidad.<sup>4</sup> Algunos autores asocian el tipo de transferrinas Tfd con la producción de leche y el periodo de lactación.<sup>10</sup>

La albúmina sérica (Al), proteína que se encuentra en mayor concentración en el suero, existe en casi todos los tejidos animales. Su peso molecular es de 68,000 y presenta un coeficiente de difusión de 6.1; contiene carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre, pero aún se desconoce su composición exacta. Participa asimismo en la regularización de la presión osmótica, transporte de ácidos grasos, bilirrubina y otras sustancias.<sup>21</sup> En ganado bovino los fenotipos más importantes son AA, AB y BB, controlados por dos alelos codominantes que son AA (F = rápida) y BB (S = lenta) de acuerdo con su velocidad de migración electroforética. El fenotipo más común en *Bos indicus* es AB y en *Bos taurus* es AA. En razas de origen africano se han detectado los alelos C, D, E y G, cuya frecuencia es muy baja. Se ha llegado a establecer una relación positiva entre albúminas séricas y parámetros productivos en bovinos, en especial aquellos poseedores de sangre Cebú.<sup>3,5,6,7,8,9,11,15,16,20</sup>

La hemoglobina (Hb) es la materia colorante de la hemáties que contiene hierro de la sangre; es una sustancia cristalina de color rojo y composición compleja que consta principalmente de una proteína (globina) combinada con la hematina. Su peso molecular es de 64,500, con coeficiente de difusión de 6.9, su función consiste en transportar oxígeno a los órganos.<sup>2,21</sup> Se han determinado los alelos HbA, HbB, HbC, HbD y HbF. El tipo HbA (S = lenta) es el más frecuente y es característico de *Bos taurus*; el HbB (F = rápida) es menos común y se encuentra únicamente en *Bos indicus*. Las variantes HbC, HbKh y HbD (Zambia) se han determinado en ganado Cebú de origen africano.<sup>17</sup> La HbF es fetal y evoluciona solamente en HbA o HbB. Existe abundante información sobre Hb que confirma la importancia

de este sistema bioquímico polimórfico en el origen y evolución de las diferentes razas de ganado bovino.<sup>3,5,7,8,9,11,16,17</sup>

Numerosos informes de la literatura mundial comprueban que la Tfe, AlB y HbB corresponden a marcadores genéticos de origen afroasiático *Bos indicus*.

En México, el ganado Cebú se introdujo por primera vez en 1884 con ejemplares de Estados Unidos, al cual se le cruzó con ganado criollo, esta circunstancia provocó que se diluyera la sangre. En 1923 se promovió la importación de Cebú de Brasil; de 1930 a 1945, esta última se incrementó e incluyó las razas Gyr, Nelore, Guzerat e Indubrasil, además de la Brahman que se trajo de Estados Unidos. Este fue el inicio de criaderos en Nuevo León, Tamaulipas, huasteca potosina, Veracruz, Chiapas, Tabasco y Michoacán.<sup>23</sup>

Actualmente se ha creado una población de ganado Cebú empleando selección genética para reducir la talla, a aquélla se le ha denominado minivacas y es resultado de más de 20 años de investigación. En este programa se involucraron seis generaciones de animales que iniciaron con raza Indubrasil. Para el presente trabajo, se analizaron 14 ejemplares que se encuentran en el Rancho Tanleón, localizado en Tamuin, San Luis Potosí.

En su morfología, los animales presentan características de ganado Cebú; sin embargo, el peso y la alzada representan la diferencia más aparente, ya que al nacer pesan entre 4 y 6 kg. Cuando son adultos, las hembras tienen un peso promedio de 150 a 180 kg, y los machos de 200 a 220 kg, con mínimos de 60 cm de alzada y 140 kg de peso, esto es, una quinta parte del tamaño normal.<sup>18</sup>

El objetivo de este trabajo es determinar, por medio de la identificación de polimorfismo bioquímico de hemoglobinas, transferrinas y albúminas séricas, si el patrón electroforético de esta nueva población corresponde al que se encuentra establecido para *Bos indicus*.

## Material y métodos

Se obtuvieron muestras sanguíneas de 14 individuos minivacas Cebú, *Bos indicus*; de éstas, cinco eran machos y nueve hembras.

Se colectaron 5-10 ml de sangre de cada animal, en tubos vacutainer estériles con anticoagulante etilendiamino tetracético (EDTA), con una dosis de 1 a 2 mg/ml de sangre. Las muestras se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.

Cada muestra fue colocada en un tubo de centrifuga para ser sometida a 300 gravedades durante 10 minutos con el fin de obtener plasma y glóbulos rojos. Se colocaron ambas fracciones en frascos identificados por separado. Las muestras de plasma se almacenaron en congelación a -20°C, para la determinación de transferrinas y albúminas séricas. Por su lado, y con el propósito de obtener hemoglobinas, los glóbulos rojos fueron lavados tres veces en solución salina isotónica (0.85% de NaCl) y lisados posteriormente en agua des-

tilada, se les mantuvo en refrigeración durante 24 horas antes de su determinación.

Los sistemas bioquímicos polimórficos se identificaron mediante técnicas de electroforesis zonal en gel de almidón, empleadas en el Laboratorio de Biología Molecular e Inmunogenética del Departamento de Virología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Las técnicas que se utilizaron fueron de Gahne *et al.*,<sup>10</sup> para hemoglobinas; de Braend y Efremov<sup>6</sup> para albúminas, y de Kristjansson<sup>14</sup> para transferrinas; todas ellas con modificaciones de la técnica de Smithies.<sup>22</sup>

Los geles fueron interpretados empleando muestras de referencia (testigo) cuyos fenotipos han sido determinados en el laboratorio ya mencionado; por otra parte, las frecuencias fenotípicas y alélicas de los sistemas bioquímicos polimórficos se calcularon por medio de un simple conteo génico.

## Resultados

En las minivacas estudiadas las transferrinas y las hemoglobinas se presentaron como proteínas polimórficas mientras que las albúminas presentaron un solo patrón electroforético (Cuadro 1).

Identificación*	Transferrinas	Hemoglobinas	Albúminas
2 h	DE	BB	AB
2 h	DE	BB	AB
02 m	DE	BB	AB
7 h	AE	AB	AB
7 h	AE	AB	AB
13 h	DE	BB	AB
18 h	DD	BB	AB
18 m	DE	AB	AB
20 h	DE	AB	AB
21 h	DD	AB	AB
28 h	DE	BB	AB
4 h	AE	BB	AB
1 h	AD	BB	AB
3 h	AD	BB	AB

\* h = hembra  
m = macho

Las frecuencias fenotípicas en las transferrinas fueron de 0.1428, 0.2142, 0.1428 y 0.5 para los fenotipos AD, AE, DD, y DE, respectivamente, sin encontrarse individuos de los fenotipos AA ni EE. Las frecuencias alélicas fueron 0.1785, 0.4642 y 0.3577 para los alelos A, D y E respectivamente.

En el caso de las albúminas séricas, todos los animales fueron del fenotipo AB, dando así una frecuencia alélica de 0.5 tanto para A como para B.

En lo que respecta a las hemoglobinas, 0.3571 fueron AB y 0.6428 presentaron el fenotipo BB, teniendo como frecuencia alélica los valores de 0.1785 y 0.8213 para A y B respectivamente.

## Discusión

La población de minivacas Cebú, *Bos indicus*, surgió como consecuencia de los trabajos de selección realizados con seis generaciones de animales; el hato original de la investigación era raza Indubrasil, ésta tuvo su origen al cruzar razas Gyr, Nelore y Guzerat.<sup>23</sup> Actualmente, el hato de minivacas presenta características de Nelore, Gyr y ciertos rasgos de Brahman, posiblemente debido a que en el proceso selectivo sus características fenotípicas se fueron segregando.

En el sistema transferrinas encontradas en este trabajo se detectó un marcado polimorfismo (Cuadro 1). En general, las transferrinas se diferencian de las demás proteínas plasmáticas por presentar el polimorfismo genético más complejo, especialmente en bovinos. De este sistema se determinaron los alelos TfA, TfD y TfE. En las minivacas estudiadas los patrones corresponden a los fenotipos: AD, AE, DD y DE (Figura 1). Esta variación se debe a que todos los sistemas bioquímicos polimórficos se controlan genéticamente por alelos autosómicos codominantes que carecen de las características dominante y recesiva,<sup>21</sup> lo anterior provoca que cada alelo se exprese en esta población (TfA, TfD y TfE); así, genotipos homocigóticos, como TfD TfD, dan lugar a un fenotipo (patrón de bandas) totalmente diferente al de los fenotipos heterocigóticos como TfA TfD, TfA TfE y TfD TfE. Al calcular la frecuencia alélica, a través de un conteo génico simple, el alelo TfD es el que representa mayor frecuencia en minivacas estudiadas, seguido por TfE y TfA. Baker y Manwell<sup>8</sup> notificaron, en *Bos taurus* y *Bos indicus* las frecuencias del sistema transferrinas, mencionan que el alelo TfE es el más característico y más frecuente en animales *Bos indicus*, y que el alelo TfD lo es en *Bos taurus*. Jiménez<sup>13</sup> determinó las frecuencias alélicas de transferrinas, específicamente de bovinos raza Gyr, Brahman e Indubrasil en México, y señaló a TfD como el alelo más frecuente en las razas Gyr e Indubrasil, y a TfE en la raza Brahman. Al analizar estos resultados y recordar las razas involucradas en la creación de estas minivacas, es posible pensar que la frecuencia de TfD en estos animales se puede atribuir a la fijación de este alelo como producto de la frecuencia original de la raza Indubrasil.

El hecho de que se mencione a TfD como exclusivo de *Bos taurus* se debe a los estudios realizados por Ashton y Hewetson<sup>1</sup> y más recientemente por Fernández *et al.* en Cuba,<sup>9</sup> quienes obtuvieron elevadas frecuencias de TfD en razas dedicadas a la producción de leche, como la Holstein, o bien en cruza como la F1 (Holstein × Cebú) definiendo como característica de *Bos taurus* a TfD.

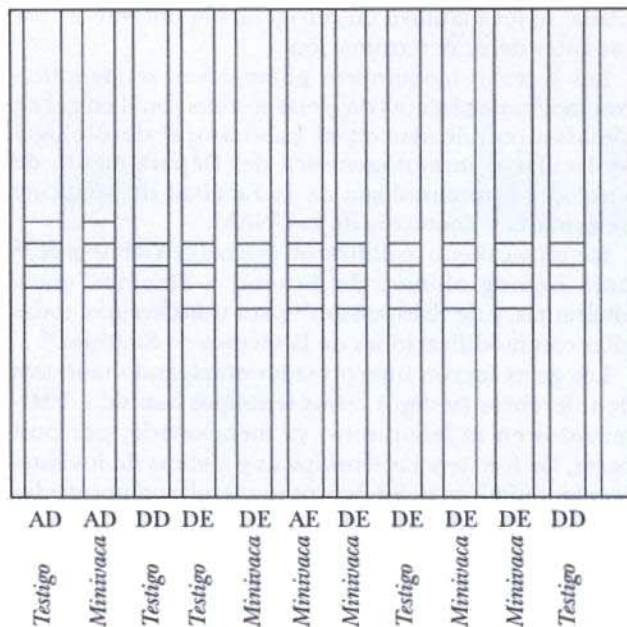
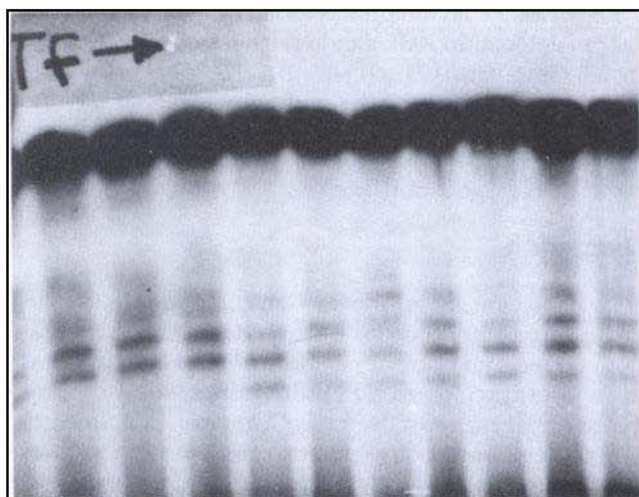


Figura 1. Fotografía de gel de almidón y esquema donde se pueden observar los patrones correspondientes a los fenotipos encontrados en 14 ejemplares de minivacas Cebú.

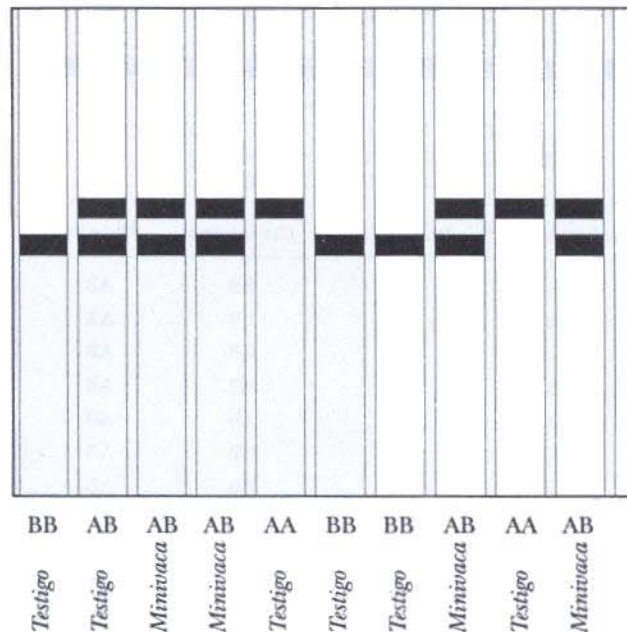
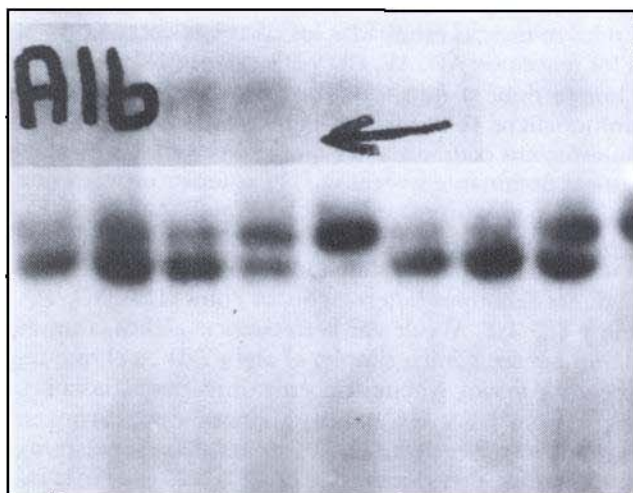


Figura 2. Fotografía de gel de almidón y esquema donde se pueden observar los patrones correspondientes a los fenotipos encontrados en 14 ejemplares de minivacas Cebú.

Al alelo T1E se le ha encontrado con mayor frecuencia en animales localizados en climas cálidos,<sup>3</sup> por esta circunstancia se le ha atribuido a *Bos indicus*.<sup>16</sup> Sin embargo, Baker y Manwell<sup>3</sup> obtuvieron una distribución de T1E que es especialmente interesante, pues se presenta con demasiada frecuencia en animales que se encuentran en una localización geográfica completamente diferente, lo informan en razas escandinavas y célticas (*Bos taurus*), hindúes (*Bos indicus*) y africanas (sanga). Al respecto existen cuatro hipótesis:

a) La posible selección del alelo T1E en condiciones

climáticas difíciles, ya que las tres razas se localizan en climas con temperaturas extremas; b) que la T1E persista como una variación ancestral que se mantiene en estas razas, pudiendo deberse a un origen común de los animales; c) que se trate de diferentes mutaciones del alelo T1E localizado en las diferentes razas; y d) que los resultados se deban a un principio de fundación que después haya sido fijado por la selección y cruce durante las generaciones.

La albúmina es la fracción más abundante, soluble y con mayor velocidad de migración de las proteínas

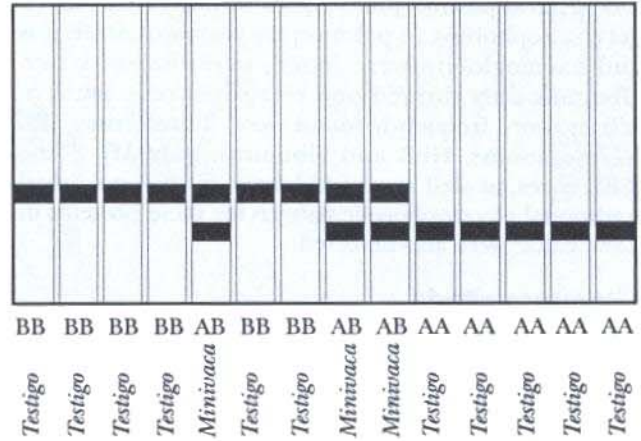
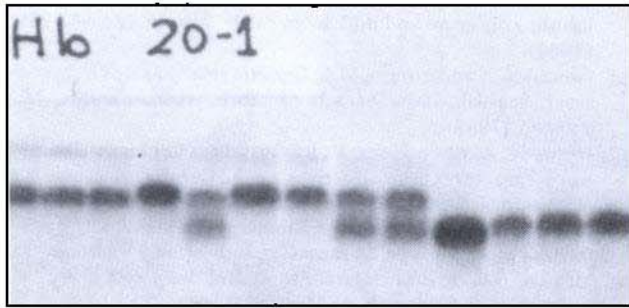


Figura 3. Fotografía del gel de almidón y esquema donde se pueden observar los patrones correspondientes a los fenotipos encontrados en 14 ejemplares de minivacas Cebú.

plasmáticas. Está determinada por alelos autosómicos codominantes.<sup>21</sup>

En este estudio, las minivacas revelaron tener un solo fenotipo de albúminas, AB, (Cuadro 1) que en electroforesis corresponde a dos bandas; una lenta determinada por el alelo B y otra rápida, que la determina el alelo A (Figura 2). Por lo tanto, la población de *Bos indicus* estudiada resulta ser heterocigótica para esta proteína, a pesar de la consanguinidad que pueda haberse dado en las seis generaciones de permanecer como un hato cerrado. Aunque resulta importante considerar que debiera esperarse que fueran homocigóticas, ya sea AA o BB.

Baker y Manwell<sup>3,16</sup> publicaron estudios sobre las frecuencias alélicas de albúminas y han empleado esta información para diferenciar el origen filogenético de los bovinos en el mundo. El fenotipo más común encontrado en *Bos indicus* es AB, y en *Bos taurus* el alelo más común es AA, sin que exista explicación sobre la heterosis en el *B. indicus*.

En virtud de que se conocen las diferentes variantes de albúminas y dados los importantes roles metabólicos de éstas, tales como su relación en el equilibrio ácido-básico, en la presión oncótica de plasma y linfa, así como su variación durante la gestación en humanos y en bovinos y el transporte de hormonas como progesterona y corticoides, varios investigadores han hecho estudios que asocian esta proteína polimórfica con caracteres fisiológicos tales como los procesos reproductivos.<sup>12</sup> Específicamente, a la albúmina se le ha relacionado con: edad a primer parto, duración de la gestación, servicios por concepción e intervalo entre partos.<sup>12</sup> En Cuba, Granada y Berovides<sup>12</sup> llevaron a cabo estos estudios en ganado Cebú y refirieron elevadas frecuencias del fenotipo AB en animales con excelentes parámetros reproductivos. Sin embargo, Mandall y Dattagupta<sup>15</sup> realizaron estudios semejantes en animales F1 (Holstein × Cebú) y atribuyeron los mejores parámetros al tipo AA.

En esta investigación se hallaron minivacas que presentan los alelos A y B, en virtud de ello es posible que esa heterosis les proporcione ciertas ventajas en cuan-

to a sus caracteres reproductivos. Lo anterior se apoya, además, en la superioridad que en estudios poblacionales han demostrado los individuos heterocigóticos sobre los homocigóticos.<sup>3,16</sup>

Por su parte, las hemoglobinas (Hb) presentan una estructura química compleja con propiedades biológicas específicas, como transportadoras de oxígeno en el organismo, esta circunstancia confirma la importancia de este sistema bioquímico polimórfico en el origen y evaluación de las diferentes razas de ganado bovino.<sup>5,9,16</sup>

Los fenotipos encontrados en las minivacas del hato estudiado fueron AB y BB (Cuadro 1). El alelo que se presentó con mayor frecuencia fue HbB, en el patrón electroforético se representa por una banda rápida (Figura 3). Azuara<sup>2</sup> considera este alelo, HbB, característico para la identificación de *Bos indicus*. Aun cuando el fenotipo AB no fue el más frecuente de los dos encontrados en este trabajo, se explica su presencia ya que Braend,<sup>5</sup> y Pascual y Pérez-Beato<sup>19</sup> lo hallaron en razas Gyr y Brahman.

De esta manera, al presentar los alelos HbA y HbB, no se observan diferencias significativas de las minivacas con respecto del resto del ganado Cebú.

Las diferencias y semejanzas encontradas en las frecuencias génicas de transferrinas (Tf), albúminas séricas (Al) y hemoglobinas (Hb) en minivacas en relación con el patrón del ganado *Bos indicus* tradicional, se debe, quizá al efecto de la selección que se efectuó; en consecuencia, es factible que se creen sistemas de adaptación que proporcionen diferentes posibilidades para la especie. También puede deberse a un principio de fundación (deriva génica) debida a la frecuencia existente en los animales de la primera generación ya que se mantiene como un hato cerrado.

## Abstract

Blood samples from Zebu "minicows" (*Bos indicus*), from 5 males and 9 females, were taken in order to determine electrophoretic patterns of the three

biochemical polymorphic systems through zonal starch gel electrophoresis. As polymorphic proteins: transferrins and haemoglobins were found, nevertheless, serum albumins only showed one electrophoretic pattern. Alleles more frequently found were: Transferrins, Tfd; haemoglobins, HbB and albumins, only AB. Some differences, as well as resemblances, to the established traditional electrophoretic pattern for these proteins in Zebu cattle were also detected.

## Literatura citada

1. Ashton, G.C. and Hewetson, R.W.: Transferrin type and milk yield in dairy cattle. XIth European Conference on Animal Blood Groups and Biochemist Polymorphysm. Warsaw, Poland. 1968. 127-138. *Animal Blood Groups Biochemist Polymorphysm*. Warsaw, Poland (1968).
2. Azuara, B.P.: Selección genética del 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., 1980.
3. Baker, C.M.A. and Manwell, C.: Chemical classification of cattle. 1. Breed groups. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 11: 127-150 (1980).
4. Braend, M.: The use of blood in bovines disputed parentage cases. *Cornell Vet.*, 46: 83 (1956).
5. Braend, M.: Studies on relationships between cattle breeds in Africa, Asia and Europe: Evidence obtained by studies of blood groups and protein polymorphysm. *Wld. Rev. Anim. Prod.*, 1: 10-14 (1970).
6. Braend, M. and Efremov, G.: Polymorphism of albumin in farm animals. 5th International Congress of Animal Reproduction. Trento, Italy. 1965. 401-403. *Animal Reproduction Association*. Trento, Italy (1965).
7. Fernández, M. y Granado, A.: Polimorfismo de los sistemas transferrina (Tf), hemoglobinas (Hb) y albúmina (A) en vacas 3/4 Cebú % 1/4 Holstein. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.*, 12: 189-196 (1981).
8. Fernández, M., Granado, A. y Pérez-Beato, O.: Variantes genéticas de cinco sistemas polimórficos sanguíneos en animales Cebú cubano de uno y otro sexo. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.*, 14: 13-17 (1983).
9. Fernández, M., Granado, A. y Pérez-Beato, O.: Polimorfismo de seis sistemas sanguíneos y cinco lácteos en vacas de la raza criolla cubana. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.*, 14: 253-260 (1983).
10. Gahne, B., Rendel, A. and Venge, D.: Inheritance of betaglobulins in serum and milk from cattle. *Nature*, 186: 907-908 (1960).
11. Gonzalez, P. and Tuñón, M.J.: Genetic relationships between seven Spanish native breeds of cattle. *Anim. Genetics*, 18: 249-256 (1987).
12. Granado, A. y Berovides, V.: Las variantes del locus albúminas y caracteres reproductivos en el Cebú y su cruce F1 (Holstein % Cebú). *Rev. Salud Anim.*, 1: 105-112 (1979).
13. Jiménez, O.G.: Frecuencias preliminares de los alelos de transferrinas en bovinos de las razas Gyr, Indobrasil y Brahman en México. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1970.
14. Kristjansson, A.: Genetic control of two pre-albumins in pigs. *Genetics*, 48: 1059-1063 (1963).
15. Mandall, B. and Dattagupta, R.: Serum albumin polymorphism and its relationships to economic traits in crossbred cattle. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 16: 229-233 (1985).
16. Manwell, C. and Baker, C.M.A.: Chemical classification of cattle. 2. Phylogenetic tree and specific status of the Zebu. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.*, 11: 151-162 (1980).
17. Namikawa, T. and Takenaka, O.: Bovine haemoglobin betaA Zebu, beta A43 (cd3) ser Thr: An intermediate globin type between the betaA and betaD Zambia is present in Indian Zebu cattle. *Anim. Genetics*, 18: 133-141 (1987).
18. National Research Council: Microlivestock. *National Academy Press*, Washington, D.C., 1991.
19. Pascual, C. y Pérez-Beato, O.: Caracterización del Cebú cubano en la región occidental de Cuba mediante el polimorfismo genético bioquímico. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.*, 16: 285-291 (1985).
20. Roaro, G.T.: Polimorfismo genético de albuminas en bovinos de las razas Gyr, Indobrasil y Brahman en México. Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1970.
21. Santiago, C.S.: Determinación de marcadores bioquímicos sanguíneos (transferrinas, hemoglobinas y albúminas séricas) en: Codorniz común (*Coturnix coturnix*), faisán doméstico (*Phasianus colchicus*), ganso común (*Anser anser*), paloma doméstica (*Columbia livia*) y pato pekín (*Anas platyrhyncho*). Tesis de licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.* Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1986.
22. Smithies, O.: Zone electrophoresis in starch gels group variation in the serum proteins of normal adults. *J. Biochem.*, 61: 629-641 (1951).
23. Vizcarra, S. O.: El Cebú en México. *B. Costa-Amic*, México, D.F., 1975.