

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



POLIMORFISMO GENETICO DE LAS TRANSFERRINAS EN LAS
POBLACIONES BOVINAS SACRIFICADAS EN EL RASTRO DE
GUADALAJARA, JALISCO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JUAN ARTURO LOPEZ URIARTE

X G E N E R A C I O N 7 3 - 7 8

GUADALAJARA, JAL. ABRIL DE 1982

A LA SRA. REYNA URIARTE RINCON

Mi Madre a la cual debo mi formación

**CON PROFUNDA GRATITUD DEDICO ESTE TRABAJO
AL ARQ. JORGE ENRIQUE ZAMBRANO VILLA.**

A MIS HERMANOS

FRANCISCO

ROBERTO

ARMANDO

ERNESTO

PATRICIA

ANA

A MI ESPOSA

CARMEN LETICIA RUBIO DE LOPEZ

Que con Amor me ha impulsado a
Seguirme superando.

A MI HONORABLE JURADO.

A MIS ASESORES

Q.F.B. CARMEN YOLANDA PARTIDA O.
M.V.Z. ANTONIO OROZCO SANCHEZ

Gracias.

A LOS COMPAÑEROS QUE TRABAJAN
EN EL LABORATORIO DE GENETICA
DE LA F.M.V.Z. MI RECONOCIMIENTO
TO.

AL DEPARTAMENTO DE GENETICA DE LA
UNIDAD DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS
DE OCCIDENTE DEL I.M.S.S. POR SU --
DESINTERESADA AYUDA Y EN ESPECIAL AL
M.V.Z. ROGELIO ALONSO MORALES.

A LA MEMORIA DEL M.V.Z. SALVADOR DUEÑAS JIMENEZ, COMPAÑERO DE
GENERACION Y ENTRAÑABLE AMIGO. Q.E.P.D.

1.-	INTRODUCCION	1
2.-	MATERIAL Y METODOS	6
3.-	RESULTADOS	12
4.-	DISCUSIONES	16
5.-	CONCLUSIONES	17
6.-	RESUMEN	18
7.-	BIBLIOGRAFIA	20

I N T R O D U C C I O N

El método tradicional para la distinción de las razas basado solo en el aspecto morfológico, carece de bases científicas debido a las dificultades para medir éstas variaciones, y establecer patrones de cada raza. (13)

En México las poblaciones bovínas han estado sujetas principalmente a la selección natural; ésta ha favorecido a animales adaptados a condiciones de supervivencia, más no de producción.

Los animales altamente mejorados que entran al País carecen de rasgos de adaptación. El material genético y sus consecuencias fenotípicas de las poblaciones bovínas merecen un estudio más detallado para una mejor comprensión y mejor administración de nuestros recursos ganaderos.

Por estas circunstancias especiales es necesario que se logre un conocimiento de las características bioquímicas de las poblaciones que existen de ganado bovino en México, estableciendo las semejanzas y diferencias entre los distintos grupos y sus relaciones entre sí.

El comportamiento genético de las variaciones bioquímicas y antigénicas de muchas proteínas se ha comprendido con detalle en los últimos años; siendo posible utilizarlos para la caracterización de las diferentes razas de ganado, facilitando los estudios filogenéticos y para planear y controlar la selección sobre bases genéticas. (14)

El polimorfismo resulta de la existencia simultanea en una población de varios factores genéticos distintos (Alelos, ordenación de genes), con efectos fenotípicos distintos. (13)

Esta variabilidad puede utilizarse en el estudio de distintos problemas genéticos y de reproducción.

Se les llama grupos sanguíneos tanto a los antígenos de los eritrocitos, como a las proteínas del plasma. -- Las moléculas proteicas (así también los polipeptidos aminoácidos, azúcares, purinas, pirimidinas y hasta los simples --- iones inorganicos) pueden ser aisladas de un conjunto con muchas sustancias con la aplicación de un campo eléctrico, que las obliga a "emigrar" hacia el electrodo positivo o negativo con velocidades típicas. (21)

Esta técnica se conoce en el nombre de ELECTROFORESIS, y se utiliza ampliamente en investigaciones y análisis clínicos, bioquímicos y biológicos. (16)

Los rasgos bioquímicos pueden usarse además para pruebas de paternidad, para determinar la pureza de un hato comparado con los patrones de su raza; para identificación de gemelos monocigóticos; para comprender la fisiología molecular y rastreo de rutas metabólicas (17), y para detectar -- portadores de genes anormales. (23)...

Numerosos estudios se han llevado a cabo para tratar de descubrir la posibilidad de la asociación entre el polimorfismo genético de las proteínas séricas y caracteres de interés económico, la mayoría de los cuales son de naturaleza cuantitativa. (23)

La finalidad práctica de dicha investigación es la de usar dicho polimorfismo en los planes de mejoramiento animal.

En la reproducibilidad de los resultados obtenidos con electroforesis, se han encontrado sistemas polimórficos de proteínas y enzimas. (14)

En los bovinos se han descubierto polimorfismo en diversos sistemas: hemoglobina (Banghan 1957), transferrina (Ashton 1957), albúminas (Ashton 1965), fosfatasa alcalina (Gahne 1963), postalbúminas (Ashton 1965), anhidrasa carbonica (Stormont 1967) y amilasas (Gasparski y Stevens 1968).

Dentro de las proteínas del plasma tenemos a la TRANSFERRINA ó siderofilina, ésta proteína plasmática es una "B₁" globulina cuya función es de transportar el hierro. Comprende alrededor del 3% de las proteínas totales del plasma.

Tiene un peso molecular aproximado de 90 000 y es capaz de enlazar a dos átomos de hierro por molécula.

El hierro unido a la transferrina esta en forma férrica; el enlace solo tiene lugar en presencia del CO_2 en el nivel normal de hierro plasmático, 100 Mg. por 100 Ml. la transferrina está saturada en un 30%. (21)

Si bien, otras proteínas plasmáticas son capaces de enlazarse al hierro, la afinidad que para este elemento manifiesta la transferrina es mucho mayor que la de otras proteínas.

La incapacidad del riñón para excretar hierro puede resultar del hecho de que todo el hierro del plasma está unido a la transferrina, que no es filtrable.

Se han demostrado 8 tipos diferentes de transferrina en el bovino. Cada tipo parece estar controlado por un gen codominante localizados todos en un solo locus autosomal.

Los diferentes tipos son los siguientes:
Tf A1, Tf A2, Tf B, Tf D1, Tf D2, Tf F, Tf E, Tf G.

Si bien las transferrinas parecen tener una relación directa con el origen de las razas bovínas, su relación con la función zootécnica es más discutida, pero parece existir como lo demuestran extensos estudios hechos en Australia y E.U.A., en cuanto se refiere a la producción lechera, ya que vacas con el fenotipo DD de acuerdo con estos estudios, rinden más leche durante períodos más largos de tiempo. (23)

La habilidad para identificar dichos genes segregando en una población puede y lo es, una gran ayuda para el genetista y para el criador.

Existen variaciones heredables en cuanto se refiere a su movilidad en un campo electroforético. (5)

El objeto de éste estudio, es el de obtener un panorama de la estructura genética de las poblaciones bovínas existentes en el occidente del País, empleando como marcador genético la transferrina.

Al clasificar las transferrinas sabemos que según el tipo es la velocidad con la cual migran. Esto es: La Tf. A es la más rápida, la Tf. B es la que le sigue en movilidad y así sucesivamente hasta llegar a la Tf. G que es la más lenta. (11)

M A T E R I A L

Y

M E T O D O S

E Q U I P O

Fuente de poder (Buchler Instruments)

0 - 500 Voltios

Camara para electroforesis

Potenciometro

Centrifuga

Refrigerador

Bomba de vacío

Calibrador de p. H.

Mechero Bunsen.

MATERIAL DE LABORATORIO

Papel filtro

Tubos de ensayo

Pipetas Pasteur

Matraces Erlenmeyer

Pipetas graduadas

Placas de vidrio (16 x 16 cms.)

Pinzetas

Perillas de hule

Papel celofan (Vitafilm)

REACTIVOS

Almidón hidrolizado de papa

Acido acetico glacial

Metanol

Agua destilada

Edta

Acido borico

Acido cítrico

Tris

Hidroxido de sodio

Napthalene Black (Amido Black).

Se utilizó a los bovínos que llegan al Rastro Municipal de Guadalajara Jalisco. Se muestrearon 408 bovínos y se obtuvo la sangre en el momento del sacrificio.

Los animales se clasificaron de acuerdo a su aspecto y a su conformación como sigue:

Animales de raza: Cebú, Holstein, Pardo Suizo, Charolais, --
Hereford, Simmental.

Animales cruzados: c/Cebú, c/Holstein, c/Pardo Suizo, - ----
c/Hereford.

Animales nativos: Criollo.

Se observaron un total de 1,731 animales, de los cuales se seleccionaron 408 para muestrearlos de acuerdo a una tabla de números aleatorios, de ésta, una columna correspondía a cada clase de bovino, y la secuencia de los números determinaban el orden de muestreo.

La sangre se toma en tubos de ensayo limpios, con EDTA al 7.5%, las muestras se centrifugan a 2,000 r.p.m. durante 10 min. para obtener el suero, el cual se pasa a tubos limpios para guardarse en refrigeración para su posterior utilización, mediante el metodo de Electroforesis Zonal en - Gel de Almidón.

La Electroforesis, es una técnica descubierta por Tiselius en 1937, la cual consiste básicamente, en la aplicación de corriente eléctrica directa, con el fin de separar por migración moléculas ionizadas ya que estén presentes en un medio líquido (Electroforesis Libre) o en un medio o soporte semi sólido (Electroforesis Zonal), esta última fué desarrollada por Smithies en 1955.

Se empleo una pequeña variante de la técnica descrita por la Universidad de Zaragoza (España). (16)

Utilizamos Gel de Almidón al 12% empleando un buffer compuesto de:

Acido Cítrico-----1.0575 g x litro

Tris-----2.3009 g x litro

Con un pH de 7.8

El buffer utilizado en las cubetas tiene la siguiente composición:

Hidroxido de Sodio--3.999 g x litro

Acido Borico-----18.549 g x litro

Con un pH de 8.7

En un Matraz Erlenmeyer de 500 c.c. se disuelve el almidón (Hidrolizado de papa) en 100 c.c. del buffer para el gel, se calienta bajo la flama de un mechero Bunsen, agitando contantemente y una vez entrado en ebullición se somete al vacío para extraer el aire que podría impedir un buen corrimiento.

Acto seguido, se vierte en una placa de vidrio- (16 x 16 cms) y se refrigera por 30 minutos en una cámara -- humeda.

Después se efectuan unas incisiones alineadas - para introducir dentro del Gel unos pequeños rectangulos de papel filtro (.5 x .3 mm) previamente humedecidos con el suero de cada muestra.

Cada gel contiene 20 muestras colocadas a 4 cms en uno de los lados del vidrio. El gel se cubre con papel celofan (vitafilm) quedando listo para iniciar la Electrofore-
sis.

El gel se coloca dentro de la cámara para Elec-
troforesis, adaptandole unos puentes de papel de 3 mm. entre el gel y el buffer.

Aplicamos una corriente previa de 300 Volts, 30 miliamperes durante 20 min. y después 350 Volts. durante 3-- horas.

Una vez que terminamos el corrimiento, el gel - se voltea y se tiñe para posteriormente identificar y tipificar las transferrinas.

Para teñir las transferrinas se empleó una solución compuesta de la siguiente forma:

Amido Black ----- 3 g.

Sol. 5-5-1 ----- 100 ml.

La composición de la solución 5-5-1 es como sigue:

Metanol ----- 500 ml.

Agua Destilada ----- 500 ml.

Acido Acetico ----- 100 ml.

Se tiñe durante 30 minutos y después se fija en solución 5 - 5 - 1 Seguidamente se pueden observar las transferrinas.

Se investigó en forma general (guías de transporte de ganado, facturas expedidas en el rastro de ésta -- Ciudad y contactos verbales con algunos introductores) la procedencia del ganado bovino que llega al Rastro Municipal y concluimos que: Aproximadamente el 70% es originario de Jalisco; el 30% restante procede en orden de importancia de los Estados de: Michoacan, Zacatecas, San Luis Potosí, Nayarit, Guerrero, Aguascalientes y Guanajuato, excepcionalmente llega ganado bovino procedente de los Estados de Sonora y Sinaloa.

De ésta manera podemos afirmar que el tipo de ganado bovino que llega al rastro municipal de la Ciudad de Guadalajara, es representativo del Occidente de nuestro País.

A continuación presentamos los resultados de nuestro estudio:

Tabla No. 1.- Muestra la relación de animales observados de acuerdo a la clasificación previa.

Tabla No. 2.- Se encuentra la relación de animales muestreados para su posterior análisis.

R E S U L T A D O S

A N A L I S I S

D E

C U A D R O S

O B S E R V A D O S

LOTE No.	CEBU	HOLSTEIN	SUIZO	CRIOLLO	HEREFORD	SIMENTAL	CHAROLAIS	C/CEBU	C/HOLTEIN	C/HEREFORD	C/EUROPEO	C/SUIZO	T O T A L
(1) 29/11/79	25	9	2	37				73	7	1			154
(2) 2/11/79	18	18	2	33				83	10				164
(3) 7/11/79	16	4	1	32				106	12				171
(4) 9/11/79	8	0	-	33				111	7	1	7	-	167
(5) 13/11/79	11	2	-	25	5	1		62	14		4	3	127
(6) 16/11/79	6	17	-	43				90	11	-	-	-	167
(7) 20/11/79	49	4	-	7			1	83	-	-	4	-	148
(8) 23/11/79	5	25	-	18				85	14		1	-	148
(9) 2/11/79	9	9	-	31				80	6		1	-	136
(10) 5/11/79	8	3	1	19				49	5	2	1	-	88
(11) 6/11/79	5	9	2	25				65	9	2	-	-	117
(12) 9/11/79	9	18		49				53	11		4		144
T O T A L	169	118	8	352	5	1	1	940	106	6	22	3	1,731
%	9.76	6.8	0.46	20.33	0.28	0.06	0.06	54.3	6.13	0.35	1.30	0.17	

M U E S T R E A D O S

LOTE No.	CEBU	HOLSTEIN	SUIZO	CRIOLLO	HEREFORD	SIMENTAL	CHAROLAIS	C/CEBU	C/HOLSTEIN	C/HEREFORD	C/EUROPEO	C/SUIZO	T O T A L
(1) 29/1/79	6	5	2	8				15	2	1			39
(2) 2/11/79	5	4	2	12				15	2				40
(3) 7/11/79	5	1	1	7				20	3				37
(4) 9/11/79	4	-	-	5				10	1	1	3		24
(5) 12/11/79	4	2	-	4	5	1	1	10	3	2	2		34
(6) 16/11/79	2	5	-	11	-	-	-	19	3	-	-	-	40
(7) 20/11/79	9	-	-	-	-	-	-	14	-	-	1	1	25
(8) 23/11/79	4	6	-	5	-	-	-	16	3	-	1	-	35
(9) 2/111/79	4	3	-	11	-	-	-	17	4	-	1	-	40
(10) 5/111/79	4	3	1	6	-	-	-	8	1	2	1	-	26
(11) 6/111/79	2	4	2	7	-	-	-	9	3	2	-	-	29
(12) 9/111/79	4	7	-	10	-	-	-	12	4	-	2	-	39
TOTAL	53	40	8	86	5	1	1	165	29	8	11	1	408
%	13.	9.80	1.97	21.07	1.23	0.24	0.24	40.44	7.10	1.97	2.70	0.24	

Algunos de los alelos son característicos de razas en particular por ejemplo; Tf. B y Tf. F en Cebú, pero no en Jersey, Hereford ó Shorthorn, pero otros alelos; - Tf. A, Tf. D₁, Tf. D₂, y Tf. E, están difundidos por todas partes.

Cada tipo de transferrina migra en gel de almidón por electroforesis como 4 proteínas discretas, (homocigótico), los heterocigóticos, exhiben combinaciones de los 4 tipos de bandas con posiciones diferentes en el gel. (9)

En la grafica No. 1, se esquematizan los distintos tipos de transferrinas encontrados y el número de animales correspondiente a cada uno de ellos, el número total de animales muestreados es de 406 queda reducido a 215 plenamente identificables para este marcador genético, no habiéndose notado una correlación de un tipo para cada raza, sino que, se encuentran difundidos en la población en su conjunto.

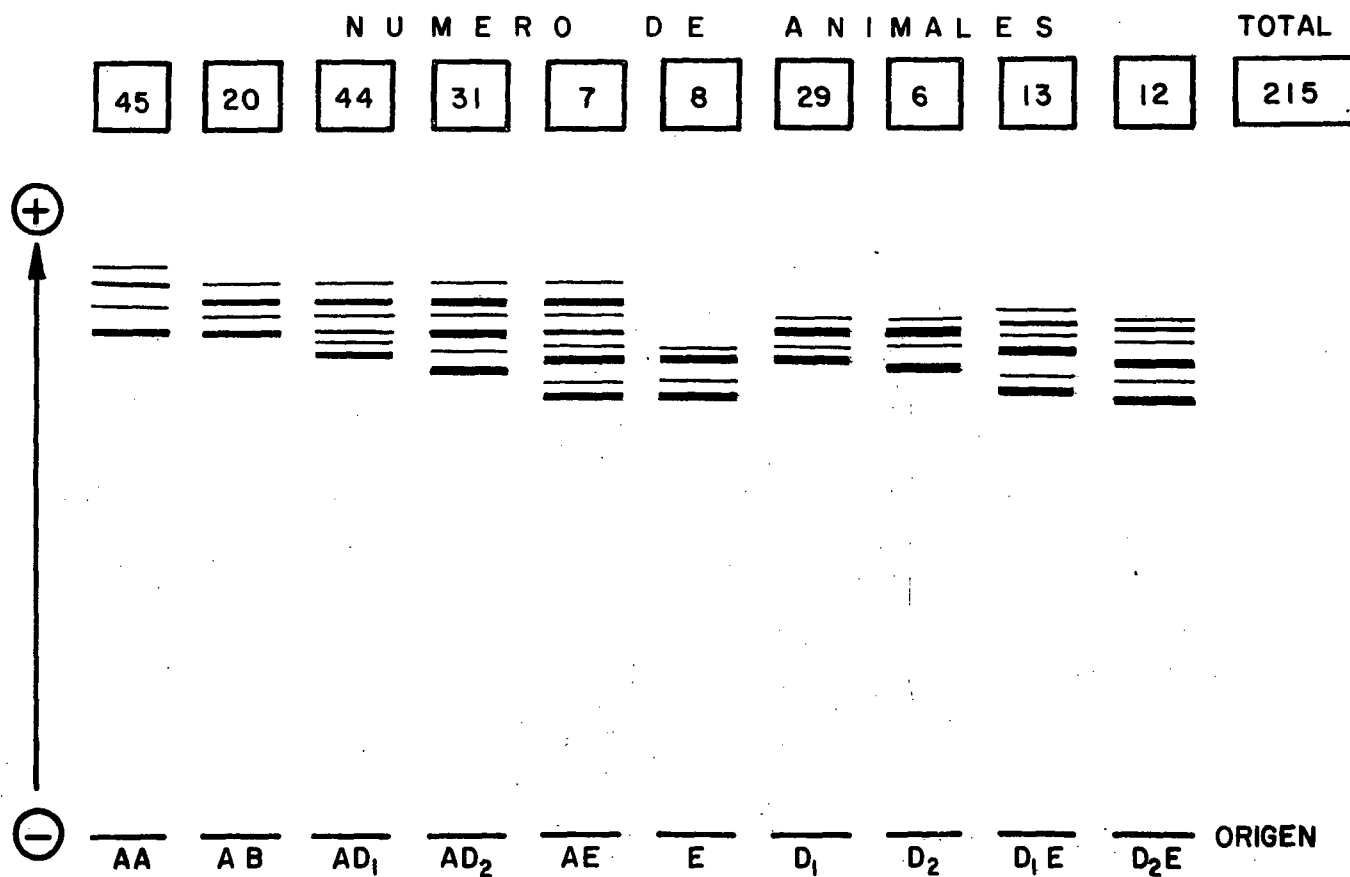
A N A L I S I S

D E

G R A F I C A

GRAFICA No.1

TIPOS DE TRANSFERRINAS ENCONTRADOS



TRANSFERRINAS DE 4 BANDAS

(100 Muestras)

Este fenotipo es el más numeroso que encontramos.

Variación en la primera banda .2 y en la última .4 Tf AA

(45 Muestras)

Ninguna variación en la primera banda y de .7 en la última Tf AB

(20 Muestras)

Ninguna variación en la primera banda y de .9 en la última Tf D₁

(29 Muestras)

Variación de .1 en la primera banda y de .4 en la última Tf D₂.

(6 Muestras)

TRANSFERRINAS DE 6 BANDAS

(75 Muestras)

Variación de .3 en la primera banda y de .5 en la última Tf AD₁.

(44 Muestras)

Variación de .5 en la primera banda y de .4 en la última Tf AD₂.

(31 Muestras).

TRANSFERRINAS DE 8 BANDAS

(40 Muestras)

Variación en la primera banda .6 y en la última de I Tf E

(8 Muestras)

Variación en la primera banda de I y en la última de 1.2 Tf DE

(13 Muestras)

Variación en la primera banda .3 y en la última de .6 Tf D₂E

(12 Muestras)

Variación en la primera banda .2 y en la última de .4 Tf AE

(7 Muestras).

D I S C U S I O N E S

Los resultados obtenidos en este trabajo nos permite tener una idea de la heterogeneidad genética de nuestras poblaciones bovínas, por el hecho de haberse encontrado los distintos tipos de transferrina en las diferentes razas.

Estos hallazgos concuerdan con los reportados por Indalecio Rodolfo Quinteros y W.J. Miller, (9) Jiménez - García Octavio (11), y Piojan Aguade Carlos (20), ya que - - igualmente se observó una marcada difusión de los distintos alelos para Tf, en los totales de las poblaciones muestrea--das.

Esto posiblemente se ha debido a que nuestro ganado no se ha sometido a un alto índice de selección artificial, sino que más bién ha imperado la selección natural y no programada, lo que origina un alto grado de mestizaje.

C O N C L U S I O N E S

Los polimorfismos bioquímicos pueden ser usados para cuantificar las relaciones genéticas entre las razas. Se puede considerar que estas relaciones representan en algunos casos historias evolutivas, pero en todo caso definen el alcance de variación genética entre las razas estudiadas.

Con la reducción dentro de una misma raza de la variación mediante la selección y la inseminación artificial la variación genética entre dos razas crece progresivamente en importancia en lo referente a materia prima para posteriores mejoras.

Los datos obtenidos en éste trabajo no permitieron un análisis más detallado (matemático) debido ésto al extenso polimorfismo encontrado, pero éste trabajo y otros más realizados en México (11), (20), (25), permitirán establecer bases científicas para llegar a conocer nuestras poblaciones ganaderas y así posteriormente lograr desarrollar una raza verdaderamente productiva y mejorada propia de nuestro País, la cual en base a su gran capacidad de adaptación a nuestro clima y a las características de manejo del ganadero Mexicano podría sentar un precedente en la utilización de nuestros animales criollos, y así darles la importancia que realmente merecen y que no tienen en este momento. Esta es la finalidad de éste estudio; y ojalá que otros sigan posteriormente.

R E S U M E N

Numerosos estudios se han llevado a cabo para tratar de descubrir la posibilidad de la asociación entre el polimorfismo genético de las proteínas séricas y caracteres de interés económico, la mayoría de los cuales son de naturaleza cuantitativa.

La finalidad práctica de dicha investigación es la de usar dicho polimorfismo en los planes de mejoramiento animal.

En México las poblaciones bovínas han estado sujetas principalmente a la selección natural, esta ha favorecido a animales adaptados a condiciones de supervivencia - mas no de producción.

Los animales altamente mejorados que entran al País carecen de rasgos de adaptación. El material genético y sus consecuencias fenotípicas de las poblaciones bovínas merecen un estudio más detallado para una mejor comprensión y mejor administración de nuestros recursos ganaderos.

En el presente trabajo se observan los diferentes tipos de transferrinas encontrados en el ganado bovino sacrificado en el Rastro de Guadalajara, Jalisco.

Encontramos en la población muestreada 4 de los 8 tipos de alelos para transferrina descritos para ganado bovino (Tf. A, Tf. B, Tf. D, y Tf. E). Se observa un alto grado de heterogeneidad genética para éste grupo sanguíneo en nuestros hatos ganaderos, debido esto quizás a la falta de selección -- artificial no programada, y ha que ha imperado la cruce natural sin ninguna restricción.

R E F E R E N C I A S

B I B L I O G R A F I C A S

- 1.- A. Stratil and R. L. Spooner.- Isolation and Properties of Individual Components of Cattle Transferrin: The Role of Sialic Acid. (Biochemical Genetics, Vol. 5, 347-365, - 1971).
- 2.- Baldwin E. Introducción a la Bioquímica Comparada Ed. -- Aguilar (1966).
- 3.- Birke Gunnar.- Las Proteínas del suero. Inst. de Investigaciones (Rey Gustavo V) Estocolmo, Suecia (1974).
- 4.- Dickerson and Geis.- The Structure and Action of Prote--ins Editorial Harper and Row (1969).
- 5.- Fowle, Cline, Klostermann and Parker.- Transferrin Genotypes and their relationship with Blood Constituents, -- Fertility and Cow productivity. (J. of Animal Science, - Vol. 26, No. 6, 1967).
- 6.- Gall and Berg.- Studies of the inheritance of Bovine Serum Transferrins. (Animal producción, Vol 6, part. 1, 107 117. 1964).
- 7.- Gandi Giorgio.- Estructura Proteica (Message Journal - - Italia 1974).
- 8.- Gordon H.- Electroforesis de proteínas en geles de Poliacrilamida y de Almidón. (Ed. El Manual Moderno, S. A., - 1975).

- 9.- Indalecio Rodolfo Quinteros and Wilmer J. Miller.- An Alternative Method in distinguishing Cattle Transferrins Phenotypes. Biochemical Genetics, Vol 2, 213-218 (1968).
- 10.- Jamieson Alan.- The Genetics of Transferrins in Cattle J. of Heredity, Vol. 20, 419-442, (1965).
- 11.- Jímenes García Octavio.- Tesis U.N.A.M.- Frecuencias preliminares de los alelos de Transferrinas en bovinos de las razas; Indobrasil y Brahaman en México. -- (1970).
- 12.- Jofre et Al.- Relación entre Locus Transferrina y Caracteres de Producción en el Charoles Cubano. (1er. - Congreso Mundial de Genética Aplicada a la Producción Ganadera. (Ed. Garci Vol. 1, (1974).
- 13.- Johansson, J. Rendel.- Genética y Mejora Animal.- (Ed. Acribia Zaragoza, 1972).
- 14.- Kidd K. K.- Polimorfismos Bioquímicos, relaciones entre razas y recursos de Plasmas en Ganado Vacuno. (1er. Congreso Mundial de Genética Aplicada a la Producción Ganadera. (Ed. Garsi Vol. 1, 321, 1974).
- 15.- Lewis A.- Bioestadística.- (Ed. C.E. C.S.A., 1970).
- 16.- Monge E.- Zarzaga I, Lasierra J.M.- (Metodología Laboratorial en el polimorfismo Bioquímico de Ganado Vacuno. Universidad de Zaragoza. Anales de Facultad de Veterinaria año X (1975).

- 17.- Ogden A.L..- Biochemical Polimorphism in Farm Animals. Animal Breeding Abstracts, Vol. 29, No. 2 (1961).
- 18.- Ondarza R.N..- Biología Moderna. Ed. Siglo XXI, (1979).
- 19.- Pérez Tamayo Ruy.- Patología Molecular, Subcelular y - Celular. La Prensa Medica Mexicana (1975).
- 20.- Piojan Aguade Carlos.- Polimorfismo Genético de Albuminas Transferrinas, Fosfatasa Alcalina y Hemoglobinas - del Ganado de Lidia Mexicano. (Tesis U.N.A.M. 1969).
- 21.- Scherr B.T..- Fisiología Animal. Ed. Omega (1968).
- 22.- Shi-Han Chen and Eldon Sutton.- Bovine Transferrins, - Sialic Acid and The Complex Phenotype. Genetics, Vol.- 56, No. 3 (1967).
- 23.- Spooner R.L..- Relación entre Génes Marcadores y Caracteres de Producción en Bovinos, Ovinos y Porcinos. - - (1er. Congreso Mundial de Genetica Aplicada a la Pro-- ducción ganadera). Ed. Garsi Vol. 1 (1974).
- 24.- Zurkowski et Al..- Changes in Frequencies of Transfe-- rrin Genes in Cattle. (1er. Congreso Mundial de Genetica Aplicada a la Producción Ganadera). Ed. Garsi, Vol. 1, (1974).
- 25.- Alonso Morales Rogelio.- Tesis F. M. V. Z. U. de G. -- (1979).