

TIPIFICACION DE HEMOGLOBINAS EN BOVINOS*

ROBERTO MARTÍNEZ RAMÍREZ **
Doctor MANUEL ALVAREZ RICO ***

INTRODUCCION

La hematología en bovinos, ha tomado cada día un lugar más importante en los estudios de fisiología animal.

Algunos investigadores han dicho que los niveles de ciertos constituyentes de la sangre, pueden ser usados como guía en la evaluación de la adaptación de un animal a un determinado medio ambiente, y por lo tanto van a influir indirectamente en la producción animal.

Investigaciones realizadas a partir de 1953, han demostrado correlación principalmente entre el tipo de hemoglobina que tenga una raza o parte de sus individuos, y su capacidad de adaptación a condiciones tropicales; también se ha hallado correlación con otros factores productivos como se verá posteriormente.

Es conocido de todos el poco éxito obtenido en Colombia con la importación de razas que no se han adaptado a nuestro medio tropical, y que por lo tanto no han podido ser explotados, ocasionando pérdidas tanto económicas como de tiempo.

El objetivo de este trabajo es analizar las hemoglobinas de varias razas existentes en Colombia, y mediante comparación con trabajos citados en la literatura, fijar

los patrones para los tipos de hemoglobinas. Este paso inicial nos permitirá en el futuro estudiar las razas criollas con el fin de aprovechar mejor su potencial genético.

Se espera con este trabajo sentar algunas bases para poder determinar posteriormente la utilidad del tipo de hemoglobina como indicador de adaptación y de producción.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades.

La hemoglobina es una proteína conjugada, formada por la proteína globina y el pigmento hem (Wright, 1965). Por medio de la electroforesis que es la migración de partículas bajo la influencia de un campo eléctrico, se pueden diferenciar los tipos de hemoglobina, en base a sus movilidades electroforéticas, las cuales son debidas a la naturaleza de las cargas libres sobre la superficie de la globina (Lewis, 1960).

* Trabajo dirigido presentado como requisito parcial para optar al título de Zootecnista.

** Zootecnista egresado de la Universidad Nacional de Colombia.

*** Presidente de tesis.

La aparición de varios tipos de hemoglobinas, en adultos de algunas especies animales, ha sido reportada recientemente por algunos investigadores. El interés en este aspecto fue estimulado, por el hallazgo de hemoglobinas anormales en el hombre, y por el desarrollo de la electroforesis de papel (Grimes et al., 1957; Evans, 1963).

Tipos de hemoglobina en bovinos.

Hay una extensa literatura sobre hemoglobinas en bovinos. El primer trabajo fue realizado en 1955 por Cabannes y Serain, citado por Rendel, 1967, en el Norte de África con ganado argelino, encontrando tres tipos de hemoglobina: un tipo designado A que parece ser el más común y corresponde a la banda de velocidad relativa más baja; otro tipo llamado B que tiene una velocidad relativa de migración más rápida, y un tercer tipo llamado AB que corresponde a la combinación de los dos anteriores.

Posteriormente trabajos con resultados iguales fueron realizados por otros investigadores en sus respectivos países; entre ellos se pueden citar los realizados en Estados Unidos por Grimes et al., 1957; Salisbury y Shreffler, 1957; y Shreffler y Salisbury, 1959; y Parker et al., 1967. En Gran Bretaña por Bangham, 1957, 1958; en Australia por Evans, 1963; en Suiza por Weber, 1965; en la India por Sent et al., 1966; y Balakrishnan y Nair, 1967, y en Rusia por Mikle, 1967.

Nikolajczuk y Kaczmarek, 1965, encontraron en Polonia un solo tipo de hemoglobina el cual llamaron alfa.

Otros trabajos mostraron la aparición de diferentes tipos de hemoglobina. Crockett et al., 1963, en Estados Unidos, encontraron una banda que migraba entre A y B y la denominaron C; lo cual fue

corroborado por Vella, en 1958. El tipo de hemoglobina D fue encontrado por Carr, 1964, en Cebú de Angonia y tiene una velocidad de migración menor que la de A.

Distribución de los tipos de hemoglobina por razas.

Hemoglobina en adultos.

Se han encontrado diferencias significativas inter e intra-raciales respecto a los tipos de hemoglobinas.

Las razas lecheras europeas muestran generalmente hemoglobina A; entre las razas británicas y europeas solamente Jersey, Guernsey, South Devon y algunas razas francesas poseen hemoglobina B; este tipo también fue encontrado en gran porcentaje en ganado Argelino y en el Cebú (Bangham, 1958; Rendel, 1967).

Los otros tipos, C y D, tienen una frecuencia genética baja. Por consiguiente para efectos prácticos solo debemos considerar como los más posibles de aparecer en este trabajo los tipos de hemoglobina A, AB y B.

Hemoglobina fetal.

Ha sido demostrado que la hemoglobina B puede ser confundida con la hemoglobina fetal (Hb F) presente en animales menores de 90 días, la cual es producida por los eritrocitos fetales de origen linfático (Bangham, 1957; Grimes et al., 1957; Salisbury y Shreffler, 1957; Grimes et al., 1958). Esta hemoglobina fetal decrece a partir del nacimiento hasta desaparecer aproximadamente a dicha edad.

Importancia de los tipos de hemoglobina.

El principal resultado de estos trabajos ha sido el demostrar que los animales con

tipo de hemoglobina B resisten mejor las condiciones tropicales, que poseen una mayor tolerancia al calor que animales con hemoglobina A, y que a mayor frecuencia genética de hemoglobina B en una raza, es mejor su adaptación y comportamiento en el trópico; también se observó que las razas tropicales y sus cruces tienden a tener alta frecuencia genética para hemoglobina B (Evans, 1963).

Otros trabajos indican que el peso corporal de animales con hemoglobina A fue mayor que para aquellos con hemoglobina AB (Mikle, 1967).

También se encontró que el tipo de hemoglobina puede ser de algún valor práctico en determinaciones de parentesco y en trazar el origen de las razas (Shreffler y Salisbury, 1959). Además se sugiere que puede ser usado para chequear la pureza de una raza (Nikolajczuk y Kaczmarek, 1965). Se estableció que las razas o cruces pueden ser identificadas por la presencia o ausencia de un alelo particular que controla el tipo de hemoglobina (Parker et al., 1967).

Se ha encontrado una posible asociación entre la presencia de hemoglobina B y mayor susceptibilidad a la tripanosomiasis (Bangham, 1958).

Los animales con hemoglobina A presentan un volumen de producción de leche más alto y un porcentaje de grasa en ella más bajo al ser comparado con los de hemoglobina B (Bangham, 1958).

Parece que hay factores selectivos y factores especiales que favorecen al heterocigote que hacen mayor la frecuencia genética del tipo AB en él (Bangham, 1958; Sent et al., 1966).

Se piensa que puede determinarse la mayor o menor precocidad de una raza, de acuerdo al tipo en que desaparezca la hemoglobina fetal, pues más rápido co-

menzará su período de desarrollo, ya que los eritrocitos adultos transportan mayor cantidad de oxígeno.

Teorías genéticas sobre los tipos de hemoglobina.

Recientemente se ha sugerido que la estructura química de los genes que parecen intervenir en la producción de hemoglobina, es la que determina la sucesión de aminoácidos en las cadenas peptídicas de la globina. De este modo, en una misma especie y dentro de una misma raza, la variación en la posición de dichos aminoácidos dará como resultado diferentes tipos de hemoglobina y como los genes son macromoléculas que se duplican, cualquier variación estructural se transmitirá a la siguiente generación (Leavel y Thorn, 1967; Rendel, 1967).

Bangham, en 1957, hizo apareamientos controlados de un hato Guernsey y cinco hatos Jersey, concluyendo que los diferentes tipos de hemoglobina de estos animales podían ser controlados por un par de genes alelomórficos, ninguno de los cuales mostraba dominancia o recesividad, y ambos siendo reconocidos rápidamente en el heterocigote. Otros investigadores, Bangham, 1957; Grimes et al., 1957; Salisbury y Shreffler, 1957 y Grimes et al., 1958, han respaldado con sus trabajos esta teoría de la codominancia.

Shreffler y Salisbury, 1959, controlaron los descendientes de padres de tipo conocido, y observaron que ningún descendiente de estos cruces se apartó de la teoría de la herencia de los dos alelos; los descendientes tuvieron el genotipo de los padres y el heterocigote apareció en machos y hembras eliminando la posibilidad de que cualquiera de los genes determinantes de los tipos de hemoglobina estuviera ligado al sexo.

Crockett et al., 1957, al encontrar el tipo de hemoglobina C, se adhirieron a la teoría de Bangham y sugirieron que el factor que controla el tipo C es alélico con aquellos que controlan los tipos A y B, pero de muy baja frecuencia; y puesto que C sólo se ha encontrado unido con A, afirmaron que la unión con B es letal, concluyendo además que había codominancia de todos los alelos múltiples.

Carr, 1964, al encontrar el tipo de hemoglobina D, sugirió la presencia de un cuarto alelo en el locus de la hemoglobina.

En la Tabla 1 se puede ver el resultado obtenido al estudiar los tipos de hemoglobina en cinco razas lecheras.

MATERIALES Y METODOS

Materiales.

Fueron examinadas las hemoglobinas

de 103 animales; este número incluye 26 Holstein, 6 Aberdeen Angus, 32 Cebú, 12 Pardo Suizo, 4 Rojo Danés y 21 San Martinero.

Estos animales pertenecen a los Centros Nacionales de Investigaciones Agropecuarias (C. N. I. A.) La Libertad y Tibaitatá, del ICA, al Centro Agropecuario Marengo de la Universidad Nacional y a la hacienda Macapay de la familia Vargas Rubiano.

Para evitar interferencias con la hemoglobina fetal, se escogieron animales mayores de un año; la edad de los animales osciló entre uno y seis años en la raza Cebú, Holstein y San Martinero.

Para el análisis de las muestras fue utilizado un equipo Spinco, modelo R con el sistema de electroforesis de papel, diseñado por la casa Beckman, 1957.

TABLA 1. FRECUENCIA DE GENES Y EQUILIBRIO GENETICO DENTRO DE RAZAS *

RAZA	qHbB **	Valor	HbA HbA	HbA HbA	HbB HbB	X ²	Probabilidad
Ayrshire	0.000	Obs.	42	0	0	—	—
		Esp.	42	0	0	—	—
Pardo Suizo	$0.117 \pm 0.131 ***$	Obs.	106	30	1	0.652	$0.50 \text{ p } 0.30$
		Esp.	107	28	2	—	—
Guernsey	$0.116 \pm 0.053 ***$	Obs.	57	15	1	0.000	$p = 1.00$
		Esp.	57	15	1	—	—
Holstein	0.000	Obs.	155	0	0	—	—
		Esp.	155	0	0	—	—
Jersey	$0.333 \pm 0.069 ***$	Obs.	44	32	14	3.600	$0.10 \text{ p } 0.05$
		Esp.	40	40	10		

* Shreffler, D. C. and G. W. Salisbury 1959. Distribution and inheritance of Hemoglobin variants in American Cattle. J. Dairy Sci. 42: 1. 154.

** qHbB = Frecuencia genética de HbB.

*** ± intervalo del 95% de confianza.

El trabajo fue realizado en el C.N.I.A. de Tibaitatá (Mosquera) en el Laboratorio del Programa Nacional de Fisiología Animal, entre julio de 1971 y noviembre de 1972.

Métodos.

Las muestras de hemoglobina fueron analizadas por el sistema de electroforesis de papel.

La preparación de la muestra se hizo siguiendo la técnica modificada de Drabkin, citado por Beckman, 1961. Para el análisis de las muestras se siguió el método descrito por Crocket et al., 1963.

No fue necesario realizar el análisis cuantitativo de las tiras de electroforesis, pues ya sabemos que en caso de que se presente el heterocigote cada tipo aportará el 50% (Shreffler y Salisbury, 1957; Crockett et al., 1963). Como fue imposible conseguir patrones de los tipos de hemoglobina, se tomó la raza Holstein como patrón, pues de acuerdo a la Tabla 1 de frecuencia de genes y equilibrio genético dentro de razas, y a otros trabajos realizados por Bangham, 1957; Grimes et al., 1957; Salisbury y Shreffler, 1957, y Shreffler y Salisbury, 1959, se encontró que esta raza tiene una frecuencia para el tipo de hemoglobina A de 100% y en base a la distancia y recorrido de esta banda es fácil identificar los otros tipos de hemoglobina, pues si aparece una banda que migre antes será de hemoglobina D, si migra después pero unida a la banda A será de hemoglobina C, y si migra después pero separada es hemoglobina B.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se tabulan en varias tablas para un mejor análisis de ellos; se debe tener en cuenta que las condiciones experimentales de este tra-

jo son 2.5 ma. (Corriente constante), 16 horas, pH 8.6 y fuerza iónica de 0.019.

En la Tabla 2 se puede observar la distribución de los tipos de hemoglobina por razas y sexos.

En la Tabla 3 se pueden ver los promedios aritméticos y la moda de las distancias a la cual iniciaron la migración cada uno de los tipos de hemoglobina encontrados.

En la Tabla 4 se analiza la frecuencia de los genes determinantes de los tipos de hemoglobina.

En la figura 1 se pueden ver las bandas de los tipos de hemoglobina encontrados en cada raza.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Consideraciones generales.

El trabajo fue planeado inicialmente para las razas Cebú y Holstein, las cuales nos darían el tipo de respuesta buscado, como se puede ver en la Tabla 2; pero debido a la facilidad que se tuvo para analizar individuos de las razas Aberdeen Angus, Rojo Danés, Pardo Suizo y San Martinero no se quiso desperdiciar la oportunidad para introducirlas al trabajo.

Como se puede observar en las Tablas 2 y 3 y teniendo en cuenta las condiciones de este trabajo, se encontraron dos tipos de hemoglobinas, denominadas A y B, de acuerdo a trabajos previos reportados en la literatura. Se caracterizaron por iniciar su migración a una distancia promedio de 1.14 y 6.0 cm., respectivamente.

En la Tabla 4 se puede ver que la hemoglobina A tuvo una frecuencia genética de 93.21% y la B sólo 6.79%, apareciendo solo en la raza Cebú esta última. Lo anterior nos hace ver que hay diferencias inter e intra-raciales, lo cual puede ser usado como marcador genético y nos sería de

TABLA 2. DISTRIBUCION DE LOS TIPOS DE HEMOGLOBINA EN BOVINOS

RAZA	Número de	Hb. A		Hb. AB		Hb. B	
	Animales	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Holstein	26	8	18	—	—	—	—
Rojo Danés	4	—	4	—	—	—	—
Pardo Suizo	12	—	12	—	—	—	—
Aberdeen Angus	6	—	6	—	—	—	—
Cebú	34	10	17	—	—	—	—
San Martinero	21	12	9	—	—	—	7
Total	—	—	96	—	—	—	7

TABLA 3. DISTANCIAS DE MIGRACION ELECTROFORETICAS DE LOS TIPOS DE HEMOGLOBINA EN BOVINOS

RAZA	\bar{X} (cm.) *		Moda (cm.)	
	HbA	HbB	HbA	HbB
Holstein	1.14	—	1.1	—
Rojo Danés	1.10	—	1.1	—
Pardo Suizo	1.12	—	1.1	—
Aberdeen Angus	1.16	—	1.1	—
Cebú	1.12	6.0	1.1	6.0
San Martinero	1.12	—	1.1	—
Total	1.12	6.0	1.1	6.0

* Promedio aritmético.

TABLA 4. FRECUENCIA GENETICA DE LOS TIPOS DE HEMOGLOBINA EN BOVINOS

RAZA	Nº Animales examinados	Hb. A %	Hb. B %
Holstein	26	100.00	—
Rojo Danés	4	100.00	—
Pardo Suizo	12	100.00	—
Aberdeen Angus	6	100.00	—
Cebú	34	79.42	6.79
San Martinero	21	100.00	—
Total	103	93.21	6.79

gran utilidad en determinaciones de parentesco, origen y selección.

Dentro de una misma raza no hubo diferencias entre sexos a excepción del Cebú, cuya razón se explicará más adelante, anulando la idea de que haya genes ligados al sexo para determinar los tipos de hemoglobina. Tampoco hubo diferencias por edad en las razas San Martinero, Holstein ni Cebú. No se observó efecto alguno, en un momento dado, en el tipo de hemoglobina característico de una raza, al estar situados sus componentes en medios ambientes diferentes.

Tipos de hemoglobina por raza.

De acuerdo a las condiciones de este trabajo, la hemoglobina A fue el único tipo encontrado en las razas Holstein, Aberdeen Angus, Rojo Danés, Pardo Suizo y San Martinero, como puede verse en la Tabla 2.

En la raza Holstein fue encontrada únicamente hemoglobina A, lo cual es corroborado con los trabajos reportados por la literatura (Bangham, 1957; Grimes et al., 1957; Salisbury y Shreffler, 1957; Shreffler y Salisbury, 1959) y están de acuerdo con los resultados de la Tabla 1. No hubo diferencias entre sexos ni edades.

Los resultados obtenidos con la raza Aberdeen Angus coincidieron con los obtenidos por otros investigadores (Shreffler y Salisbury, 1959; Evans, 1963; Parker et al., 1967). Lo mismo sucede con la raza Rojo Danés, pues Bangham, 1958, al estudiarla en Dinamarca obtuvo solamente hemoglobina A.

En la raza Pardo Suizo se encontró hemoglobina A, coincidiendo con resultados obtenidos por Grimes et al., 1957, pero estando en desacuerdo con otros trabajos

que reportan para esta raza los tipos A, AB y B (Salisbury y Shreffler, 1957; Bangham, 1958; Shreffler y Salisbury, 1959). La muestra fue tomada de un solo hato y con esto hace suponer que hay líneas genéticas dentro de una raza, con un tipo determinado de hemoglobina que las caracteriza y las diferencia de otras; pudiéndose usar este fenómeno para establecer relaciones de parentesco o conservar la pureza de una línea genética.

Los resultados obtenidos con estas cuatro razas parecen reforzar la idea de que las razas lecheras europeas y las británicas muestran generalmente homoglobina A.

La raza San Martinero, criolla colombiana, es la primera vez que se tipifica. Como puede observarse en la Tabla 2, el tipo de hemoglobina A fue el único encontrado en esta raza. No se tiene gran confianza para hacer afirmaciones respecto a los resultados encontrados, pues todos los animales pertenecen al hato del C. N. I. A. de la Libertad incluyendo tres machos que se examinaron en el C. N. I. A. de Tibaitatá; y si tenemos en cuenta el sistema de selección cerrada empleado en dicho centro, vemos que la variabilidad genética es escasa, lo cual puede limitar los resultados.

Lo único que se puede decir es que en caso de existir el gene B debe tener una frecuencia de aparición baja.

No hubo diferencias entre sexos ni edades, y el medio ambiente diferente en que estaban localizados los animales examinados tampoco afectó el tipo de hemoglobina característico de esta raza.

En el ganado Cebú fueron encontrados dos tipos de hemoglobina, A y B, pero no fue encontrado el heterocigote AB. La frecuencia genética de A es casi cuatro veces la de B como puede observarse en la Tabla 4. En general los resultados coin-

	STRIK NO.	STRIP NOS.	DATE
1 NAME: HOLSTEIN REMARKS: Hd. A	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.
2 NAME: ABERDEEN ANGUS REMARKS: Hd. A	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.
3 NAME: PARDO SUIZO REMARKS: Hd. A	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.
4 NAME: ROJO DANES REMARKS: Hd. A	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.
5 NAME: SAN MARTINERO REMARKS: Hd. A	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.
6 NAME: CEBU REMARKS: Hd. A	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.
7 NAME: CEBU REMARKS: Hd. B	CHART NO.	PROVISIONAL DIAGNOSIS	DATE SAMPLE NO. VOL.

ciden con los hallados en la literatura (Bangham, 1958; Crockett et al., 1963; Evans, 1963; Parker et al., 1967); pero la frecuencia genética para hemoglobina B es más baja que la reportada en ella.

El tipo de hemoglobina B fue encontrado en machos provenientes del C. N. I. A. de Turipaná, pero en ellos también se encontró un individuo con hemoglobina A, lo cual no da bases para

pensar que el medio ambiente haya actuado para cambiar el tipo de hemoglobina. El que no se haya encontrado hemoglobina B en las hembras estudiadas en el C. N. I. A. de la Libertad, no indica que haya genes ligados al sexo, pues en los machos fueron encontrados los dos tipos de hemoglobina, los cuales son determinantes de diferentes líneas genéticas.

CONCLUSIONES

- 1^a La electroforesis permite diferenciar los tipos de hemoglobina con base en sus velocidades de migración.
- 2^a En este trabajo fueron encontrados dos tipos de hemoglobina A y B pero no apareció el heterocigote AB.
- 3^a La frecuencia genética de B es baja comparada con la de A.
- 4^a Las razas europeas presentaron únicamente hemoglobina A, y la raza Cebú, hemoglobina A y B, presentándose una diferencia entre razas y dentro de la misma raza, lo cual hace suponer que hay líneas genéticas dentro de una raza y puede ser utilizado para estudios de parentesco, origen y selección.
- 5^a El tipo de hemoglobina no está ligado al sexo.
- 6^a El tipo de hemoglobina característico de una raza no varía con la edad.
- 7^a El tipo de hemoglobina no varía con los cambios de medio ambiente.
- 8^a La raza San Martinero presentó únicamente hemoglobina A.

BIBLIOGRAFIA

- BALAKRISHNAN, C. R. and P. G. NAYR. 1967. Haemoglobin polymorphism in Indian cattle. Animal Breeding Absts. 35: 211.
- BANGHAM, A. D. 1957. Distribution of electrophoretically different hemoglobins among cattle breeds of Great Britain. Nature 179: 467.
- BANGHAM, A. D. 1958. Distribution of electrophoretically different hemoglobins among some cattle breeds of Europe and Africa. Nature 181: 1551.
- BECKMAN. 1957. Instruction Manual. Paper electrophoresis System. Model R.
- BECKMAN. 1961. Methods Manual. Model R. Paper electrophoresis System. p. p. 3, 14, 15.
- CARR, W. R. 1968. A new hemoglobin variant. Animal Breeding Absts. 34: 1123.
- CROCKETT, J. R., M. KOCER and H. L. CHAPMAN, JR. 1963. Genetic variations in hemoglobins of beef cattle. J. Animal Sci. 23: 173.
- EVANS, J. V. 1963. Adaptation to subtropical environments by Zebu and British breeds of cattle in relation to erythrocyte characters. Aust. J. Agri. Res. 14: 559-571.

- GRIMES, R. M., C. W. DUNCAN and C. A. LAS-SITTER. 1957. Occurrence of multiples hemoglobins in certain breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 40: 1338.
- GRIMES, R. M., C. W. DUNCAN and C. A. LAS-SITTER. 1958. Bovine fetal hemoglobine. I. Postnatal persistence and relation to adult hemoglobine, *J. Dairy Sci.* 41: 1527.
- LEAVEL, B. S. y O. A. THORN, Jr. 1967. Hematología Clínica. Editorial Interamericana. Madrid, pp. 45-46.
- LEWIS, L. A. 1960. Electrophoresis in Physiology. Thomas Publisher Springfield ILL, pp. 4.
- MIKLE, S. 1967. Haemoglobin polymorphism in cattle. *Animal Breeding Absts.* 35: 1271.
- NICOLAJCZUK, M. and A. KACZMAREK. 1965. Breed specificity of hemoglobine type in cattle as exemplified by the Black Pied Lowland breed. *Animal Breeding Absts.* 33: 2252.
- PARKER, B. A., D. F. WERELEY and T. C. CART-WRIGHT. 1967. Relationship of hemoglobine types to production traits of beef cattle. 59 Annual meeting of the American Society of Animal Science.
- RENDEL, J. 1967. Studies of blood groups and protein variants as a means of revealing and difference between animal population. *Animal Breeding Absts.* 35: 373-380.
- SALISBURY, G. W. and D. D. SHREFFLER. 1957. Hemoglobins variant in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 40: 1198.
- VELLA, F. 1958. Hemoglobin types in ox and buffalo. *Nature* 181: 564.
- WEBER, W 1965. On heritable Character in cattle blood serum and hemoglobine. *Animal Breeding Absts.* 34: 2033.
- WRIGHT, S. 1965. *Fisiología Aplicada*. Editorial Marín S. A. Madrid, pp. 91.