

POLIMORFISMO DA TRANSFERRINA SÉRICA EM BOVINOS DA RAÇA CANCHIM¹

JEHUD BORTOLOZZI²

ABSTRACT.- Bortolozzi J. 1983. [Transferrin polymorphism in Canchim cattle.] Polimorfismo da transferrina sérica em bovinos da raça Canchim. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 53-57. Depto Genética, Inst. Básico Biol. Médica e Agrícola, UNESP, Cx. Postal 102, Botucatu, São Paulo 18600, Brazil.

Bovine transferrins of 59 Canchim and 29 other hybrid cattle were analysed by horizontal electrophoresis using hydrolysed starch gels, stained with Amido Black-10B, and destained with a mixture of methanol, water and acetic acid (5:5:1). Each transferrin allele produced 4 separate bands. The frequencies observed were: Tf^A = 0.331, Tf^{D1} = 0.305, Tf^{D2} = 0.169 and Tf^E = 0.195 for Canchim, and Tf^A = 0.569, Tf^{D1} = 0.103, Tf^{D2} = 0.034 and Tf^E = 0.293 for the other hybrids. The samples from Canchim cattle were not found to be in Hardy Weinberg equilibrium, which can probably be explained by environmental selection. The relatively high frequency of Tf^E in both the Canchim and the other breeds studied could be related to the good adaptability of these animals to the tropics.

INDEX TERMS: Transferrins, cattle, Canchim, polymorphism.

SINOPSE.- As transferrinas de 59 bovinos da raça Canchim e de 29 híbridos foram analisadas por eletroforese horizontal em gel de amido hidrolizado, após coloração com Amido Black-10B e descoloração com uma solução descolorante de metanol, água e ácido acético na proporção de 5:5:1. Cada alelo da transferrina produziu quatro bandas separadas eletroforeticamente e os resultados obtidos foram os seguintes: Tf^A = 0,331, Tf^{D1} = 0,305, Tf^{D2} = 0,169 e Tf^E = 0,195 para a raça Canchim e Tf^A = 0,569, Tf^{D1} = 0,103, Tf^{D2} = 0,034 e Tf^E = 0,293 para os mestiços. Em relação à raça Canchim, o rebanho estudado não está em equilíbrio de Hardy Weinberg, o que mostra uma possível seleção ambiental. A ocorrência de Tf^E em frequência relativamente alta, tanto no Canchim como nos mestiços, estaria correlacionada com a grande adaptabilidade desses animais aos trópicos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Transferrina, bovinos, polimorfismos, Canchim.

INTRODUÇÃO

O estudo do controle genético das beta-globulinas, as quais têm mostrado nos animais domésticos uma grande diversidade, revelou, através do emprego de Fe⁵⁹ em auto-radiografia, a existência de uma forma especial de proteínas, descobertas por Holmberg e Laurell (1945) e denominadas por Giblett et al. (1959) de transferrinas. Estas são proteínas específicas, que têm a função vital de transportar íons de ferro do plasma aos receptores celulares da medula óssea. Estruturalmente, as transferrinas, ou siderofilinas, são glicoproteínas com peso molecular ao redor de 88.000.

As primeiras comunicações sobre o polimorfismo das transferrinas em bovinos, detectadas por eletroforese em gel de amido hidrolizado, foram realizadas por Smithies (1957), Smithies e Hicman (1958) e Ashton (1957, 1958 a, b). Makarechian e Howell (1966) demonstraram que todas as bandas visualizadas com corantes de proteínas na região das transferrinas eram transportadoras de ferro, o que foi confirmado por auto-radiografia.

Os estudos sobre as proteínas transportadoras de ferro, realizadas em outras espécies animais e no homem, demonstraram que elas são heterogêneas, comprovando que o ácido siálico é o responsável por essa heterogeneidade (Stratil & Spooner 1971).

A natureza molecular das diferenças entre as variantes de transferrina não foi ainda determinada, mas, provavelmente estará relacionada a substituições de aminoácidos (Stratil & Spooner 1971). A ocorrência dos múltiplos componentes da transferrina depende, contudo, do número de resíduos de ácido siálico (0 a 5) ligados em cada componente. Maeda et al. (1980) demonstraram também que, além dos resíduos de ácido siálico, a heterogeneidade dentro de cada variante reside na presença de dois tipos de cadeia polipeptídica: uma sem quebra e outra com quebra na ligação entre os resíduos 55 e 54 da porção C-terminal da molécula de proteína.

Em transferrinas são conhecidos vários alelos co-dominantes correspondentes a um só loco. Alguns desses alelos são características de algumas raças bovinas, como por exemplo Tf^B e Tf^C, que ocorrem em zebu e não existem em Jersey, Hereford ou Shorthorn, enquanto outros alelos, como Tf^A, Tf^{D1}, Tf^{D2} e Tf^E são amplamente difundidos (Quinteros & Miller 1968).

Os fenótipos das transferrinas mais comuns, de maior diferenciação, e suas combinações são: A, AD₁, AD₂, AE, D₁, D₁D₂, D₂, D₁E, D₂E e E. Cada tipo homocigoto, em gel de amido hidrolizado, migra da maneira de 4 proteínas diferentes, exibindo os heterocigotos combinações de quatro tipos de

¹ Aceito para publicação em 31 de agosto de 1982.

² Departamento de Genética, Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola, UNESP, Caixa Postal 102. Botucatu, São Paulo 18600.

bandas com distintas posições na placa gelificada. Os fenótipos D_1 e D_2 são difíceis de se diferenciarem.

Com os estudos mais recentes realizados por diversos autores, e ainda após uma revisão na notação das transferrinas, podemos sugerir que sua síntese e expressão estão controladas por oito alelos, formando a seguinte série de alelos múltiplos co-dominantes, na seqüência decrescente de mobilidade eletroforética de cada uma das frações proteicas do soro: Tf^A_1 , Tf^A_2 , Tf^B , Tf^{D_1} , Tf^{D_2} , Tf^F , Tf^E e Tf^G (revisão em Bortolozzi et al. 1982).

Em virtude de os alelos serem co-dominantes, todas as combinações genotípicas possíveis podem ser evidenciadas através de eletroforese. Alguns casos de transferrinas com expressão anormal (migram com maior velocidade) foram descritos em bovinos Hereford. Tais transferrinas poderiam ser explicadas pela presença de um gene epistático (Spooner & Baxter 1969).

Com base nos resultados dos numerosos trabalhos já realizados nesse campo, hoje sabe-se que nas diversas raças de bovinos há uma predominância dos alelos Tf^A , Tf^{D_1} e Tf^{D_2} , não ocorrendo o mesmo com a freqüência do alelo Tf^E nas raças européias. Também são de freqüência baixa os alelos Tf^{A_1} , Tf^G , Tf^B e Tf^E , acreditando-se que os dois últimos ocorram somente nos zebuínos.

A baixa freqüência do alelo Tf^E nas raças taurinas (Zurkowski et al. 1977) contrasta com sua alta freqüência nas raças índicas, o que fez Ashton (1959) associar esse fato à tolerância e resistência desses animais às condições ecológicas dos trópicos.

O presente trabalho teve por objetivo principal a caracterização do polimorfismo das transferrinas sérias em bovinos da raça Canchim e sua comparação com o das outras raças já estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os bovinos utilizados neste trabalho foram gentilmente cedidos pela UEPAE (Unidade de Execução de Pesquisas de Âmbito Estadual de São Carlos, da EMBRAPA). No período de novembro de 1977 a julho de 1978, foram utilizados 59 bovinos da raça Canchim (2 machos e 57 fêmeas de idade 3-4 anos) e 29 mestiços de diversas raças (1 macho e 28 fêmeas em idade de 3-4 anos).

A raça Canchim, inteiramente desenvolvida no Brasil, foi iniciada há 38 anos pelo zootecnista Antônio Teixeira Vianna (Vianna et al. 1962, Motta 1977). O esquema de cruzamento para se obter o Canchim, com caracteres de Charolês e Zebu, compreende, em sua etapa final, de acordo com a nomenclatura zootécnica, os cruzamentos animais com constituição 5/8 Charolês e 3/8 Zebu. O resultado é o bimestiço Canchim.

As amostras de sangue para esse estudo foram coletadas por punção da jugular e o soro foi conservado a -20°C . As transferrinas foram determinadas pelo método de Quinteros e Miller (1968).

Segundo esse método as soluções tampões foram assim preparadas:

- Tampão do gel (gel buffer) pH = 6,8. Ácido cítrico a 10,5 g/l = 45 ml TRIS a 23 g/l = 38 ml. Água destilada q.s.p. = 500 ml;
- Tampão do eletrodo (tray buffer) pH = 8,7. Ácido bórico (H_3BO_3) = 37,0 g. Hidróxido de sódio (NaOH) = 8,0 g. Água destilada q.s.p. = 2,0 l.

O gel de amido, suficiente para 2 placas, foi preparada da seguinte maneira: 75 g. de amido hidrolizado (SIGMA), foram suspensos a frio com 110 ml de tampão do gel. Em seguida, foram adicionados à suspensão os 390 ml de tampão do gel, previamente aquecido a 100 graus, sendo agitado fortemente para se obter uma boa homogeneização

do hidrolizado. Antes da aplicação o gel foi deixado à temperatura ambiente durante noventa minutos.

As aplicações foram feitas a 4 cm do cátodo, em papéis Beckman nº 1 (tamanho 0,8 x 0,6 cm), embebidos no plasma ou soro utilizado, com 1 mm de separação um do outro.

Decorridos os primeiros 15 minutos de corrida eletroforética a 165 V, os papéis foram retirados, continuando a corrida por mais 15 minutos com a mesma voltagem. Em seguida, aumentou-se a voltagem para 350 V até finalizar o processo eletroforético, que se deu quando o limite boratado alcançou 12 cm de migração desde o ponto de inserção da amostra.

As duas primeiras etapas foram realizadas à temperatura ambiente, e a última (a 350 V) que só se dá com a diminuição da temperatura do gel de amido, o que foi conseguido, colocando-se sobre a placa gelificada um recipiente de plástico, com fundo plano, contendo uma quantidade suficiente de gelo.

Terminado o processo, a placa foi subdividida em placas de 3 mm, e logo em seguida corada com Amido Black 10B (Merck) durante 3 minutos, e em seguida descolorindo-se rapidamente, para se visualizar as transferrinas e albuminas, com a solução de lavagem preparada na proporção de 5:5:1 de metanol, água e ácido acético, respectivamente. Os resultados foram anotados em protocolos próprios.

Para as análises comparativas das freqüências gênicas dos polimorfismos estudados no presente trabalho com os da literatura para diversas raças de outros países, utilizou-se o teste descrito por Goodman (1965).

RESULTADOS

A Figura 1 mostra uma placa de gel de amido, na qual podem ser identificados os fenótipos das transferrinas em bovinos da raça Canchim. O Quadro 1 mostra a distribuição dos 10 genótipos possíveis e as estimativas das freqüências alélicas. Os alelos mais freqüentes são Tf^A e Tf^{D_1} , na raça Canchim, e Tf^A e Tf^D nos mestiços.

Para se verificar, ou não, a condição de equilíbrio genético no loco da transferrina, a distribuição esperada dos genótipos foi calculado e comparada com os observados (Quadro 1). Como se vê, a análise estatística para a raça Canchim indica que a população não está em equilíbrio de Hardy Weinberg ($X^2 = 12,47$, gl = 3, $P < 0,05$). O mesmo não ocorreu com os mestiços ($X^2 = 2,21$, gl = 3, $P > 0,05$).

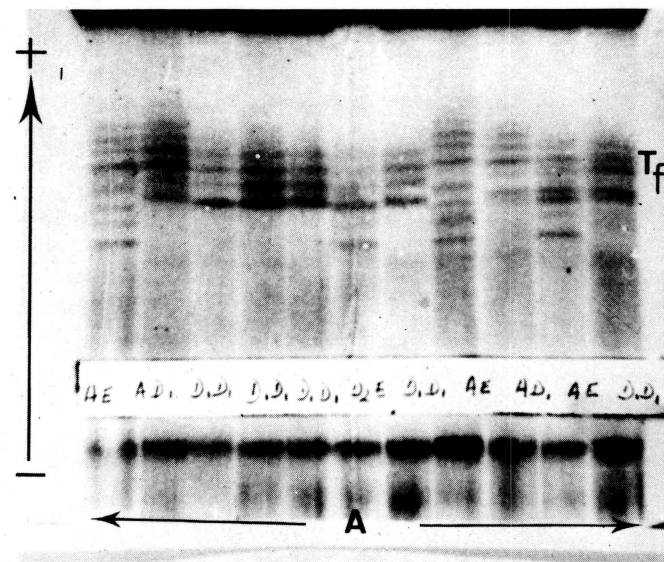


Fig. 1. Fotografia de uma placa de gel de amido mostrando os fenótipos das transferrinas em bovinos da raça Canchim. Especificações no texto. Tf = transferrinas e A = linha de aplicação.

Quadro 1. Distribuição observada e esperada dos genótipos das transferrinas séricas e respectivas frequências gênicas em bovinos da raça Canchim e Mestiços.^(a)

| Bovinos | | Distribuição e frequências gênicas dos genótipos | | | | | | | | | | |
|----------|---|--|-----------------|-----------------|-----|-----|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------|------------------|-------|
| | | AA | AD ₁ | AD ₂ | AE | EE | D ₁ D ₁ | D ₁ D ₂ | D ₂ D ₂ | D ₁ E | D ₂ E | TOTAL |
| Canchim | Observado | 3 | 13 | 9 | 11 | 1 | 2 | 10 | 0 | 9 | 1 | 59 |
| | Esperado | 6,5 | 11,9 | 6,6 | 7,6 | 2,2 | 5,5 | 6,1 | 1,7 | 7,0 | 3,9 | 59 |
| | Frequências gênicas: Tf ^A = 0,331; Tf ^{D1} = 0,305; Tf ^{D2} = 0,169; Tf ^E = 0,195 | | | | | | | | | | | |
| Mestiços | Observado | 9 | 3 | 1 | 11 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 29 |
| | Esperado | 9,3 | 3,4 | 1,1 | 9,7 | 2,5 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 1,8 | 0,6 | 29 |
| | Frequências gênicas: Tf ^A = 0,569; Tf ^{D1} = 0,103; Tf ^{D2} = 0,034; Tf ^E = 0,293 | | | | | | | | | | | |

(a) Análise estatística: Canchim: $X^2 = 12,47$, gl = 3, $P < 0,05$; Mestiços: $X^2 = 2,21$, gl = 3, $P > 0,05$.

DISCUSSÃO

O polimorfismo da transferrina tem sido estudado em várias espécies de animais, principalmente mamíferos, aves e peixes (Lush 1966). Segundo Bortolozzi et al. (1982), a série alelomórfica da transferrina é composta de 8 alelos: Tf^{A1}, Tf^{A2}, Tf^B, Tf^{D1}, Tf^{D2}, Tf^F, Tf^E e Tf^G. No presente trabalho, foram identificados os 10 tipos que a técnica de Quinteros e Miller (1968) permite identificar. A comprovação de que as bandas observadas eram transferrinas foi feita através de auto-radiografia.

O tratamento com neuraminidase (Spooner & Baxter 1969) reduz a mobilidade da transferrina, mas não altera o padrão da banda, tornando-a apenas mais visível. Em humanos, foi demonstrado que a taxa de migração da transferrina diminui com esse tratamento, devido à remoção do ácido siálico das moléculas das proteínas (Parker & Bearn 1961). Resultado semelhante foi obtido por Gahne (1961) em bovinos. Devido à boa visibilidade de nossas placas (Fig. 1), não foi necessário esse tratamento.

Cada variante da transferrina, em bovinos, consta de quatro zonas separáveis eletroforicamente. Em outras espécies de animais, essas variantes exibem diversos números de zonas ou bandas: búfalos, três bandas; ovinos e caprinos, 2; equínos, 2; suínos, 3; galinhas, 3 (revisão em Bortolozzi et al. 1982). Nenhuma explicação satisfatória existe para essa variação entre as espécies. Gahne (1961) mostrou que, ao invés do ácido siálico, os carboidratos podem ser responsáveis pelas diferenças genéticas das transferrinas. Ele propõe que diferentes constituintes químicos combinados com as moléculas das transferrinas poderiam determinar variados padrões de bandas. Stratil (1967) propõe que conalbuminas, que possuem diferentes capacidades de combinações com íons de Fe, poderiam determinar diferentes mobilidades. Efremov et al. (1971) postularam que esse fato seria devido, em parte, a possíveis diferenças do peso molecular, número e tamanho dos resíduos do ácido siálico. Stratil e Spooner (1971) sugeriram que pelo menos três locos estão envolvidos no controle da biossíntese das transferrinas dos bovinos. Com base na segregação dos fenótipos identificados, pode-se concluir que alelos co-dominantes estão envolvidos no controle do polimorfismo da transferrina

Esse resultado está de acordo com observações feitas em outras espécies por Lush (1966).

A análise estatística do equilíbrio genético nesse loco (Quadro 1) mostrou, para a raça Canchim, que a amostra não está em equilíbrio de Hardy Weinberg. Esse resultado concorda com os de Mitat (1975) para as raças Santa Gertrudes e Criollo, e indica uma possível seleção ambiental.

No Quadro 2 é apresentada uma comparação entre as frequências gênicas da transferrina do gado Canchim com as das diferentes raças de bovinos criadas em outros países. A análise estatística não mostrou diferença significativa entre as frequências gênicas dos alelos do Tf^A da raça Canchim e as das demais raças comparadas. Com relação a Tf^D, somente as raças Simental e Charolês (Cuba) é que apresentam diferenças significativas, que provavelmente são devidas a condições de manejo diferentes nessas duas raças.

Segundo Zurkowski et al. (1977), o alelo Tf^E é um dos mais interessantes alelos das transferrinas em bovinos. Apresenta distribuição bem variada, sendo inexistente em algumas raças (Jersey, Charolês canadense, Shorthorn), enquanto que em outras raças ocorre com frequência relativamente alta (Zebu, Africander, Zgumi e Sahival). Osterhoff e Neethling (1969) relataram que as raças que apresentam o alelo Tf^E em alta frequência, são as que têm boa resistência ao estresse climático. Animais homozigotos para Tf^E são mais resistentes ao calor que os homozigotos para Tf^A ou Tf^D. Além disso, os genótipos Tf^D/Tf^E e Tf^E/Tf^E estão correlacionados com pouco ganho de peso e baixo coeficiente de conversão alimentar. Assim, esse alelo merece ser estudado com mais atenção, pois, se por um lado aumenta a resistência do animal, por outro diminui sua produção. Sua frequência na raça Canchim é estatisticamente semelhante à das raças comparadas (Quadro 2), com exceção das raças Charolês canadense, Shorthorn e Sahival, com as quais apresenta diferença significativa. Spooner e Baxter (1969) relataram a existência de transferrinas anormais que seriam segundo eles, genótipos heterozigotos com migração de bandas alteradas. Neste trabalho não encontramos nenhum fenótipo desse tipo.

Não encontramos, na literatura, evidências definitivas sobre o significado adaptativo do polimorfismo das transferrinas nas

Quadro 2. Comparação das freqüências gênicas do loco da transferrina do gado Canchim com algumas raças de bovinos de outros países

| Raças e mestiço | Países e autores | Freqüências gênicas | | | Número de animais |
|-----------------|--|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| | | T _f ^A | T _f ^{D(a)} | T _f ^E | |
| Holstein | U.S.A. (Arave et al. 1971) | 0,572 | 0,387 | 0,041 | 184 |
| | Canadá (Kraay 1970) | 0,520 | 0,440 | 0,040 | 400 |
| | Japão (Abe et al. 1970) | 0,356 | 0,626 | 0,019 | 1066 |
| | Inglaterra (Jamieson 1966) | 0,470 | 0,480 | 0,050 | 414 |
| | Cuba (Mitat 1975) | 0,432 | 0,462 | 0,106 | 404 |
| | África do Sul (Osterhoff & Neethling 1969) | 0,435 | 0,530 | 0,035 | 116 |
| | Suécia (Gahne 1961) | 0,485 | 0,500 | 0,015 | 204 |
| | Rumânia (Milovan & Granciu 1972) | 0,397 | 0,573 | 0,030 | 237 |
| Simental | Canadá (Kraay 1970) | 0,150 | 0,820 | 0,030 | 55 |
| Sta. Gertrudes | Cuba (Mitat 1975) | 0,270 | 0,509 | 0,190 | 339 |
| Shorthorn | Inglaterra (Ashton 1958b) | 0,629 | 0,358 | 0,014 | 141 |
| | Canadá (Kraay 1970) | 0,690 | 0,310 | 0,000 | 50 |
| | Japão (Abe et al. 1970) | 0,535 | 0,404 | 0,061 | 156 |
| Nguni | África do Sul (Osterhoff & Neethling 1969) | 0,385 | 0,265 | 0,390 | 100 |
| Africander | África do Sul (Osterhoff & Neethling 1969) | 0,397 | 0,332 | 0,267 | 223 |
| Sahivel | Índia (Jamieson 1966) | 0,020 | 0,310 | 0,660 | 85 |
| Icelandic | Iceland (Braend et al. 1962) | 0,346 | 0,645 | 0,010 | 941 |
| Longhorn | U.S.A. (Miller 1966) | 0,300 | 0,650 | 0,050 | 303 |
| Criollo | Cuba (Mitat 1975) | 0,444 | 0,397 | 0,132 | 551 |
| | Argentina (Quinteros 1976) | 0,494 | 0,311 | 0,195 | 82 |
| Charolês | Cuba (Mitat 1975) | 0,230 | 0,757 | 0,013 | 529 |
| | Inglaterra (Jamieson 1966) | 0,370 | 0,630 | 0,000 | 23 |
| | Canadá (Kraay 1970) | 0,290 | 0,710 | 0,000 | 50 |
| | Japão (Abe et al. 1970) | 0,346 | 0,654 | 0,000 | 52 |
| Zebu | Cuba (Mitat 1975) | 0,128 | 0,454 | 0,398 | 98 |
| Canchim | Brasil (presente trabalho) | 0,331 | 0,474 | 0,195 | 59 |
| Mestiço | Brasil (presente trabalho) | 0,569 | 0,137 | 0,293 | 29 |

$$(a) T_f^D = T_f^{D_1} + T_f^{D_2}$$

diversas espécies. Entretanto, existem vários trabalhos que sugerem que as transferrinas possam estar associadas a outras funções, além do transporte de íons ferro, tais como efeitos bacteriostáticos, inibições de crescimento de viroses e ação complementar na resistência a infecções (revisão em Buettner-Januch 1970). Essas evidências, mais as correlações com as características produtivas, poderiam ser as causas da manutenção do polimorfismo dessa proteína.

Agradecimentos.- O autor agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro (PIG.

Proc. 40.0594/80), e ao Dr. Ademar Freire-Maia, pela leitura crítica do manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Abe T., Mogi K., Tanaka T. & Suzuki, S. 1970. Blood protein polymorphism of the native cattle, horses and pigs in Eastern Asia. In: 12^o Proc. European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism, Budapest, Akademiai Kiado, p. 225-228.
- Arave C.W., Lamb R.C. & Hines H.C. 1971. Blood and milk protein polymorphism in relation to feed efficiency and production traits of dairy cattle. J. Dairy Sci. 54: 106-112.

- Ashton G.C. 1957. Serum protein differences in cattle by starch gel electrophoresis. *Nature, Lond.*, 180: 917-919.
- Ashton G.C. 1958a. A genetic mechanism for protein polymorphism in cattle. *Nature, Lond.*, 182: 65-66.
- Ashton G.C. 1958b. Genetics of beta-globulin polymorphism in British cattle. *Nature, Lond.*, 182: 370-372.
- Ashton G.C. 1959. Beta-globulin alleles in some Zebu cattle. *Nature, Lond.*, 184: 1135-1136.
- Bortolozzi J., Pagani M.I. & Teixeira L. 1982. Metodologia usada no estudo dos sistemas polimórficos de bovinos. I. Polimorfismo bioquímico. *Revta Naturalia. (No prelo)*
- Braend M., Rendel J., Gahne B. & Adalsteinsson S. 1962. Genetic studies on blood groups, transferrins and haemoglobins in Icelandic cattle. *Hereditas* 48: 264-283.
- Buettner-Janusch J. 1970. Evolution of serum protein polymorphism. *Ann. Rev. Genet.* 4: 47-68.
- Efremov G.D., Smith L.L., Barton B.P. & Huisman T.H.J. 1971. Studies on bovine transferrin; isolation and partial characterization. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 2: 159-177.
- Gahne B. 1961. Studies of transferrins in serum and milk of Swedish cattle. *Anim. Prod.* 3: 135-145.
- Giblett E.R., Hichman C.G. & Smithies O. 1959. Serum transferrins. *Nature, Lond.*, 183: 1589.
- Goodman L.A. 1965. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportion. *Technometrics* 7: 247-254.
- Holmberg C.G. & Laurell C.B. 1945. Studies on the capacity of serum to bind iron. A contribution to our knowledge of the regulation mechanism of serum iron. *Acta Physiol. Scand.* 10: 307-319.
- Jamieson A. 1966. The distribution of transferrin genes in cattle. *Heredity* 21: 191-218.
- Kraay G.J. 1970. A study of protein and enzyme polymorphisms in blood of Canadian cattle. In: Proc. 12^o European Animal Blood Groups Conference and Biochemical Polymorphism. *Akademiai Kiado, Budapest*, p. 155-158.
- Lush I.E. 1966. The biochemical genetics of vertebrate except man. *Holland research monographs: frontiers of biology. Holland Publ., Amsterdam*, v. 3. 118 p.
- Maeda K., McKenzie H.A. & Shaw D.C. 1980. Nature of the heterogeneity within genetic variants of bovine serum transferrin. *Anim. Blood Groups. Biochem. Genet.* 11: 63-75.
- Makarechian M. & Howell W.E. 1966. Improved technique for separation and identification of bovine beta-globulins by starch-gel electrophoresis. *Can. J. Biochem. Physiol.* 44: 1089-1104.
- Miller W.J. 1966. Blood groups in Longhorn cattle. *Genetics* 54: 291-404.
- Milovan E. & Granciu I. 1972. Study on biochemical polymorphism in Holstein and Pinzgau breeds of cattle. In: Proc. 13^o European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism, Vienna, p. 39-40.
- Mittat J. 1975. Marcadores genéticos en el ganado bovino cubano. *Ciências Agropecuárias, Série Engenharia Pecuária, Cuba*, 10: 1-108.
- Motta A.C. 1977. Canchim: resumos informativos, EMBRAPA n^o 8, Brasília. 35 p.
- Osterhoff D.R. & Neethling L.P. 1969. Recent studies on cattle transferrin. *Afr. Vet. Med. Ass.* 40: 75-80.
- Parker W.C.S. & Bearn A.G. 1961. Studies on the transferrins of adult serum, cord serum and cerebrospinal fluid. The effect of neuraminidase. *J. Exp. Med.* 115: 83-105.
- Quinteros I.R. 1976. Estudio racial comparativo de marcadores genéticos en bovinos Criollos. *Mendeliana, Argentina*, 1: 9-16.
- Quinteros I.R. & Miller W.J. 1968. An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. *Biochem. Genet.* 2: 213-218.
- Smithies O. 1957. Variations in human serum B-globulins. *Nature, Lond.*, 180: 1482-1483.
- Smithies O. & Hickman C.G. 1958. Inherited variants in serum proteins of cattle. *Genetics* 3: 374-385.
- Spooner R.L. & Baxter G. 1969. Abnormal expression of normal transferrin alleles in Cattle. *Biochem. Genet.* 2: 371-382.
- Stratil A. 1967. The effect of iron addition to avian egg white on the behavior of conalbumin fractions in starch gel electrophoresis. *Comp. Biochem. Physiol.* 22: 227-233.
- Stratil A. & Spooner R.L. 1971. Isolation and properties of individual components of cattle transferrin: the role of sialic acid. *Biochem. Genet.* 5: 347-365.
- Vianna A.T., Santiago M.S. & Gomes F.P. 1962. Formação do gado Canchim pelo cruzamento Charolês-Zebu. *Estudos Técnicos n^o 19, Serv. Inf. Agríc. Min. Agricultura, Rio de Janeiro*. 176 p
- Zurkowski M., Skaladanowska E. & Szeniawaska D. 1977. Distribution of allele T^{rE} in cattle. *Prace Mat. Zootech. Poland* 12: 51-55.