

*SEGREGACION MENDELIANA DE ALGUNOS MARCADORES
GENETICOS DE TRANSFERRINAS EN BOVINOS
CRIOLLOS, POR EL METODO "TORO - FAMILIA" **

I. R. QUINTEROS (1)
E. D. TEJEDOR (2)
J. BISCHOFF (3)
F. SAL PAZ (4)
A. G. RAMINA (5)
P. E. TOPA (5)

RESUMEN

Continuando con la investigación de MARCADORES GENETICOS en rodeos de esta singular raza bovina argentina, se analizan las frecuencias génicas y su expresión en los genotipos correspondientes en el Sistema de Transferrinas, involucrando seis grupos "Toro-Familia" diferente. Las frecuencias alélicas totales observadas en este muestreo, se refieren a TfA. 4531, TfD₁; 4492, TfD₂ .0664 Tfe .0117, Tff .0195. En la expresión genotípica se observa evidente mayor conformación heterocigótica en correspondencia al genotipo Tf A/D₁, siendo menor para los genotipos homocigóticos Tf A/A y Tf D₁/D₁. De poca expresión son los genotipos Tf AD₂, Tf D₁/D₂, Tf D₂/D₂, Tf E/E, Tf E/F y Tf F/F.

*MENDELIAN SEGREGATION OF SOME TRANSFERRIN GENETIC
MARKERS IN CRIOLLO CATTLE, BY THE SIRE-FAMILY METHOD*

SUMMARY

As a continuation of the research on Genetic Markers of the Criollo cattle of Argentina we present the Genetic frequencies corresponding to the Transferrin System from six "Sire - Family" groups. The allelic frequencies in this sample were Tfa .4531, TfD₁ .4492, TfD₂ .0664, Tfe .0117, Tff .0195, Tf A/D₁ had the higher genotypic expression having less expression the homozigous genotypes Tf A/A and Tf D₁/D₁.

(1) Profesor Titular. Director del Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

(2) Profesor Adjunto. Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

(3) Jefe de Trabajos Prácticos. Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

(4) Director de la SEEA, Leales (INTA), Tucumán, República Argentina.

(5) Técnico especializado. Instituto de Inmunogenética Animal y Genética.

* Presentado en el NOVENO CONGRESO ANUAL. SOCIEDAD ARGENTINA DE GENETICA. VAQUERIAS. CORDOBA, Setiembre de 1978.

Trabajo realizado con la vigencia de subsidios otorgados por el CONYCET, CIENCIA Y TECNICA de la Nación, CIC de la Provincia de Buenos Aires y CAFPTA.

Instituto de Inmunogenética Animal y Genética (IIAG), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 1900. República Argentina.

INTRODUCCION

Los métodos electroforéticos sobre gel de almidón hidrolizado, permiten detectar diferencias entre proteínas controladas genéticamente. Modificando las condiciones de electroforesis referentes a tiempo de corrida, voltaje y solución tampón, es posible variar el grado de separación de las distintas fracciones proteicas.

La primera variación genética de las proteínas se demostró por medio de electroforesis sobre papel. PAULING (ganador de dos Premios Nobel) y col., en (1949) demostraron que la anemia falciforme en el hombre se expresaba con un tipo de hemoglobina, diferente a la de individuos normales. El descubrimiento promovió intensas investigaciones que llevaron a la comprobación de diversas variantes heredables de hemoglobina, actualmente con exacta diferenciación química entre uno y otro tipo; (HbA, HbS, HbC (Johansson y Rendel, 1972)

El método del gel de almidón hidrolizado introducido por SMITHIES (1955), llevó al descubrimiento de numerosas diferencias genéticas en el suero sanguíneo. SMITHIES y HICKMAN (Toronto) y ASHTON (Inglaterra), en 1957 descubrieron, independientemente, diferencias genéticas precisas de "beta-globulinas" en el suero del ganado vacuno. Estudios detallados demostraron que estas beta-globulinas eran idénticas a proteínas transportadoras de hierro denominadas "transferrinas".

En las razas bovinas de Europa occidental existen cuatro aleles principales (TfA, TfD₁, TfD₂, TfE), en el sistema génico que controla la variación en transferrinas, donde cada uno de ellos se expresa en homo o heterocigosis con 3 - 4 zonas proteínicas o bandas según la técnica utilizada. El polimorfismo en cebú es mayor que en ganado vacuno europeo, con no menos de siete aleles diferentes (JOHANSSON y RENDEL, 1972).

Los caracteres genéticos sanguíneos polimórficos sirven a investigaciones sobre evolución, como así también a estudios de relaciones y estructuras raciales. Algunos de los Sistemas Sanguíneos y Serogenéticos son particularmente valiosos cuando no existen datos de genealogías familiares, por cuanto permiten revelar directamente los genotipos (BRAEND and KHANNA, 1968, QUINTEROS, 1977).

La importancia de la variación genética en las proteínas del suero no está exclusivamente restringida al campo de la genética, evolución y relaciones de poblaciones, sino que conduce también a una mejor interpretación de las diferencias básicas existentes entre especies y entre individuos. Por otra parte, esta variedad puede permitir respuestas distintas frente a enfermedades o reacciones fisiológicas con ventajas para los heterocigotas en las interacciones complejas, llevando a presiones selectivas que mantienen los poli-

polimorfismos (BRAEND and EFREMOV, 1965; QUINTEROS, 1977).

Las primeras comunicaciones sobre polimorfismo de Transferrinas en Bovinos, verificado por electroforesis sobre gel de almidón hidrolizado, fueron realizadas por SMITHIES y HICKMAN (1958), y ASHTON (1958) quienes describieron tres aleles en razas europeas Tf^a, Tf^d y Tf^e. MAKARECHIAN y HOWELL (1966), demostraron por autorradiografías que las transferrinas eran transportadoras de hierro.

Investigaciones realizadas en diferentes especies animales y en el hombre sobre proteínas transportadoras de hierro, han demostrado que son heterogéneas, siendo el ácido siálico el máximo responsable de esa heterogeneidad (BAXTER et al., 1968).

Los resultados preliminares de estudios efectuados sobre las subunidades en transferrinas de bovino, revelan que las transferrinas de esta especie están representadas por una única cadena polipeptídica (STRATIL and SPOONER, 1971).

Comprobaciones experimentales sobre transferrinas anormales (SPOONER and BAXTER, 1969), y transferrinas fetales (SPOONER et al., 1970), inducen que al menos tres loci controlan su biosíntesis en bovinos. Se considera la existencia de un locus responsable de la síntesis de la cadena polipeptídica (Tf_p), siendo TfA, TfD₁, TfD₂, TFE las variantes genéticas más comunes controladas por este locus. Parece ser que las diferencias existentes entre las variantes individuales ocurren por sustituciones de un "único" aminoácido y que estas variantes son

"secuencias aloméricas primarias" comparables a las variantes genéticas de las hemoglobinas y transferrinas humanas (STRATIL and SPOONER, 1971; QUINTEROS, 1977).

Es de interés recalcar que STRATIL y SPOONER (1971) diferencian un posible segundo locus que controla el ordenamiento del ácido siálico en la cadena polipeptídica (Tf_{SA}), sosteniendo que la mayoría de las transferrinas anormales poseen dos residuos de ácido siálico, advirtiendo que con tres o cuatro residuos pueden resultar transferrinas de intensidad comparables a las normales.

SPOONER y BAXTER (1969), demostraron que el ordenamiento del ácido siálico probablemente está controlado por un locus "separado" del locus responsable de la síntesis de la cadena polipeptídica o locus Tf. También consideran que la distribución normal del ácido siálico (0 - 5) está controlada por un gene dominante Tf_{SA}^S, y el tipo anormal (0 - 4) por un gene recesivo Tf_{SA}^s.

Los autores sugieren que la síntesis y expresión de las transferrinas conocidas en bovinos se controlan por ocho aleles que constituyen la serie multialélica TfA₁, TfA₂, TfB, TfD₁, TfD₂, TFF, TFE y TFG. Los ocho aleles se comportan como codominantes, siendo algunos de ellos característicos de ciertas razas, por ejemplo, TfB y TFF en cebú. Cada tipo homocigota migra a la manera de "cuatro proteínas diferentes", en gel de almidón hidrolizado. Los heterocigotas exhi-

ben combinaciones de cuatro tipos de bandas, con distintas posiciones en la placa gelificada (ASHTON, 1959; QUINTEROS and MILLER, 1968).

Continuando con nuestra investigación sobre Marcadores Genéticos en el Bovino Criollo Argentino, en este trabajo se presentan los resultados comprobados en rodeos de la SEEA (INTA) de Leales, en correspondencia a Grupos Serogenéticos del Sistema de Transferrinas, involucrando seis núcleos "Toro-familia" diferentes pertenecientes a los Toros Cr 145, Cr 255, Cr 271, Cr 113,

Cr 237 y Cr 119, con un total de 128 animales analizados. Es evidente la absoluta mayor frecuencia en la segregación de los aleles TfA y TfD₁, en contraposición a los aleles TfD₂, Tfe y el nuevo alele descubierto por nosotros en Criollo al que denominamos Tff, circunstancia que debe alertar en el sentido de evitar la extinción de estas expresiones génicas y mantenerlas vigentes como parte del germoplasma racial en Criollo (la frecuencia de TfD₂ fue mucho mayor en trabajos anteriores sobre una población con Toros diferentes a los actuales).

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de sangre fueron obtenidas de seis grupos familiares, encabezados respectivamente cada uno de ellos por los Toros Cr 145, Cr 255, Cr 271, Cr 113, Cr 237 y Cr 119, con un total de 128 animales estudiados todos pertenecientes a la SEEA de Leales (INTA), Tucumán. Para comprobar la segregación de los fenotipos de Transferrinas se aplicó el método "Toro-familia", estando cada familia constituida como sigue:

Toro Cr 145, 12 Madres y 12 Hijos: 25 individuos

Toro Cr 255, 16 Madres y 16 Hijos: 33 individuos

Toro Cr 271, 4 Madres y 4 Hijos: 9 individuos

Toro Cr 113, 15 Madres y 15 Hijos: 31 individuos

Toro Cr 237, 8 Madres y 8 Hijos: 17 individuos

Toro Cr 119, 6 Madres y 6 Hijos: 13 individuos

Total de individuos 128

Los geno y fenotipos de Transferrina fueron tipificados por electroforesis horizontal sobre gel de almidón hidrolizado, de acuerdo al método descrito por KRISTJANSSON (1963), con algunas modificaciones (QUINTEROS and MILLER, 1968). La concentración de almidón hidrolizado (Hydrolysed starch — Connaught Medical Laboratories (Toronto) fue al 15 % en la preparación de los geles, con un "gel buffer" de pH 6,8 (Stock A: ácido cítrico 0.004 M, Stock B: Tris — hydroxymethyl aminomethane 0,014 M). El gel recientemente

preparado, se lo mantiene 1 y 1/2 hora a temperatura de laboratorio, seguido de 30 minutos en heladera, procediendo de inmediato a sembrar con las muestras a analizar (suero o plasma de cada animal). Para la siembra individual de cada muestra se utiliza papel de filtro Beckman (delgado) de 0,8 x 0,6 cm. embebidos con plasma o suero problema, insertados a 4 cm. del extremo catódico con separación de al menos 1 mm. uno de otro. El "bridge buffer" utilizado (SMITHIES, 1955) está compuesto de ácido bórico (0,3M) e Hidróxido de sodio (0.1M) a pH 8,7. Cumplidos 15 minutos de corrida electroforética a 165 v., se extraen los papeles de siembra,

continuando la corrida otros 15 minutos y al mismo voltaje. Seguidamente se eleva el voltaje a 350, aplicando hielo sobre el gel de almidón en proceso hasta detener el paso de corriente, que ocurre cuando el límite boratado ha recorrido 12 cm. desde el punto de inserción. El gel extraído del marco que lo contiene, es dividido totalmente a una altura de 3 mm. y teñido con una solución concentrada de Buffalo black N B R (Naphtol Blue Black). Luego de la correspondiente decoloración (Metanol: 5, H₂O:5, ácido acético glacial:1), se hace lectura de los fenotipos de Transferrinas, en correspondencia a cada animal testado.

RESULTADOS

Previamente a la presentación de los resultados, es necesario recordar los fenotipos normales

de Transferrinas más frecuentes en bovinos (*Bos taurus*) tal como se indica en la FIGURA 1.

FIGURA 1

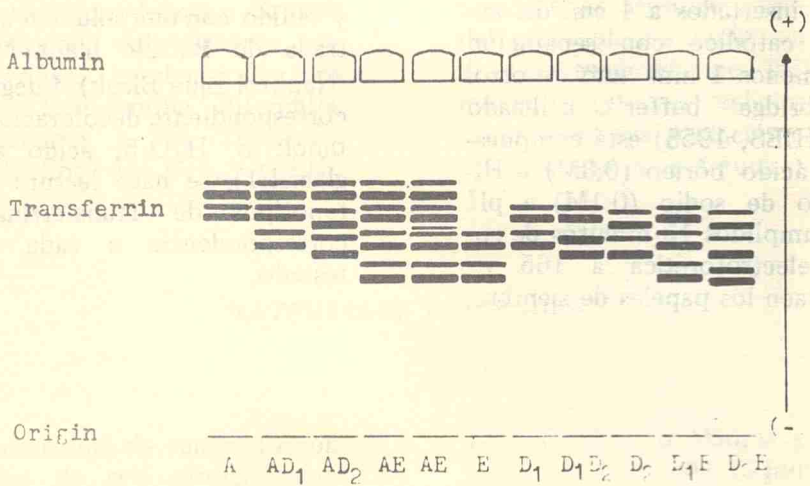


Figure 1.
 Diagram of mejor phenotypes of transferrin in cattle
 (Quinteros and Miller, 1968).

En el CUADRO 1 se expone la frecuencia y segregación de los fenotipos de Transferrinas en correspondencia a cada grupo "Toro-familia", de esta población de

Bovinos Criollos compuesta por 128 animales pertenecientes a la SEEA de Leales (INTA), Tucumán.

CUADRO 1

Fenotipos de Transferrinas observados en Bovinos Criollos de Leales (Tucumán) y Frecuencias Génicas.

TORO-FAMILIA		Grupo Familiar Totalidad de genotipos en las familias																	
PADRE	Cant.	Hijos	Tf	A/A	A/D1	A/D2	A/E	A/F	D1/D1	D1/D2	D1/E	D1/F	D2/D2	D2/F	D2/E	D2/F	E/E	E/F	F/F
Cr 145 Tf a/D1	25	12		3	14				8										
Cr 255 Tf A/A	33	16		6	16	4				3	1		1				1		1
Cr 271 Tf A/D1	9	4			7				2										
Cr 113 Tf A/D1	31	15		6	16	3			3				2						1
Cr 237 Tf A/D1	17	8			15				1										1
Cr 119 Tf A/D1	13	6		1	8	1			2				1						
TOTALES	128	61		16	76	8			19		1		4				1	1	2

Fenotipos segregados en Hijos		Frecuencia génica en cada familia														Frecuencia génica segregada							
Tf	AA	AD1	AD2	AE	AF	D1D1	D1D2	D1E	D1F	D2D2	D2E	D2F	D2F	EE	EF	FF	Tf	A	D1	D2	E	F	
Cr 145 Tf A/D1	3	5				4												.4583	.5457				
Cr 255 Tf A/A	4	9	1											1		1		.5625	.2812	.0312	.0625		.0625
Cr 271 Tf A/D1	3	3				1												.3750	.6250				
Cr 113 Tf A/D1	7	3	3			2										1		.5330	.3670	.1000			
Cr 237 Tf A/D1		7																.4375	.4375				.0625
Cr 119 Tf A/D1		3	1			2												.3333	.3333	.3333			
TOTALES	10	34	5			9								1	1	1							

El Cuadro 2, sintetiza los resultados totales de esta comprobación

CUADRO 2

Total familiar de Genotipos de Transferrinas y sus frecuencias génicas en Bovinos Criollos de Leales, Tucumán. Método "TORO-FAMILIA".

Número de Toros: 6

Número de Madres: 61

Número de Hijos: 61

Totalidad de individuos: 128

Totalidad de genotipos familiares: Tf A/A A/D₁ D₁/D₁ D₁/D₂
A/D₂ D₂/D₂ E/E E/F F/F

Frecuencia génica total familiar: Tf A D₁ D₂ E F
.4531 .4492 .0664 .0117 .0195

Frecuencia génica total segregada: .4840 .4260 .0400 .0250 .0250

Las Figuras 2 y 3 representan dos corridas electroforéticas sobre gel de Almidón Hidrolizado.

FIGURA 2

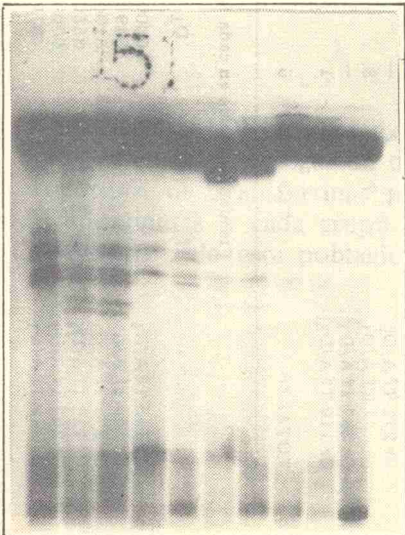
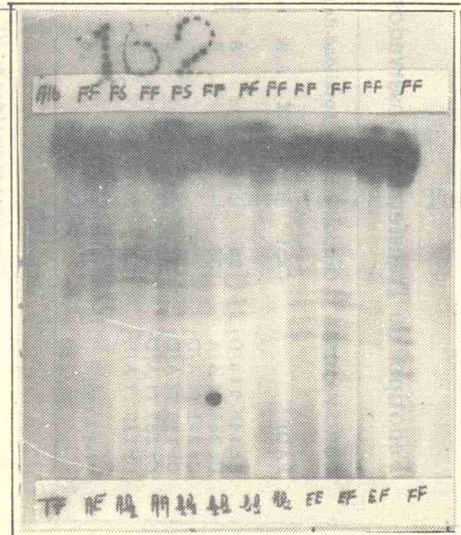


FIGURA 3



Las Figuras 3 y 4 exponen los fenotipos observados en la totalidad de la población.

FIGURA 4

PROTOKOLO No 464... ESPECIE Bovino Criollo... FECHA 13-9-78

METODO K-Q.....	1... 9,05 Hs	465	Vts	40	M.A.M.P.
STARCH-GEL-al 15, %	2... 9,20	465		35	
	3... 9,40	350		45	Hielo
RAN 12 cm.....	4... 11,25	350		20	
OBS: Papel mediano	5.....				

S U E R O	Nº	TRANSFERRINA	Hb	ALB
Testigo HA 5	1	AE		FF
Cr 500	2	AD ₁		FS
Cr 649	3	AA		FF
Cr 808	4	D ₀		FS
Cr 140	5	D ₁ D ₂		FF
Cr 166	6	D ₂ D ₂		FF
Cr 836	7	AD ₂		FF
Cr 735	8	EE		FF
Cr 667	9	EF		FF
Cr 679	10	EF		FF
Cr 234	11	FF		FF

DISCUSION

Cuando se realizan comparaciones entre fenotipos de Transferrinas que ocurren en razas Americanas (Longhorn y Criollo), con otras tan lejanas como las razas Europeas o Africanas, en ocasiones las conclusiones son solo indirectas. Aún cuando los fenotipos de Transferrinas expresados

en Bos taurus y Bos indicus aparecen iguales, no podemos concluir que esos fenotipos son idénticos.

No obstante ello, hay diferencias remarcables en ocurrencia y frecuencias de genes de Transferrinas entre distintas razas bovinas, por ejemplo, comparando las

razas Muturu y N'Dama por un lado, con las razas Zebuínas por el otro. En esta relación, también podemos mencionar que el factor sanguíneo Z' no se expresa en Muturu ni en N'Dama, mientras que Z' es detectado de manera común en Gudali y Bodoro (BRAEND, 1968), en Longhorn Americano (MILLER, 1966), en Charolais brasileño y en la Raza Canchim de Brasil (QUINTEROS y col. 1978). Estas consideraciones son válidas para estudios raciales comparativos y de origen de las razas y tipos bovinos.

Las transferrinas en Bovino de Islandia, estudiado por BRAEND y col. (1962), demuestran que los aleles TfA y TfD son los más comunes con frecuencia de .35 y .64, respectivamente, mientras que la del alele TfE es muy baja (.01).

Las Transferrinas del suero han sido investigadas en relativamente pocas razas bovinas. El gene TfE ha tenido baja frecuencia en el Bovino de Islandia (BRAEND et al., 1962), en Shorthorn y Friesians (ASHTON, 1958a). Las líneas Coloradas de la Raza Sueca Mocha, emparentadas a las Noruegas nativas, dieron las siguientes frecuencias: TfA .44, TfD .54 y TfE .02 (BRANED et al., 1962 GAHNE, 1961), que concuerda con el ganado islándico. Las razas Roja y Blanca Sueca (GAHNE, 1961) y Roja Danesa (MOUSTGAARD et al., 1960) tienen frecuencias del gene TfE relativamente altas (.28 y .14) respectivamente), mientras que en ambas razas la más alta frecuencia corresponde a TfA (.50 y .48, respectivamente).

En pequeños grupos aislados originados de determinada población con una frecuencia de baja magnitud, por ejemplo el gene V en algunas razas nórdicas europeas (DOLA, TELEMAR, etc.), corre considerable riesgo de extinguirse, lo que también puede ocurrir con el gene TfE del Sistema de Transferrinas en las razas anteriormente mencionadas. El concepto es válido para las razas Longhorn Americano y Bovino Criollo, sobre todo para este último en lo referente a los aleles TfE y TfF.

En la población de 128 Bovinos Criollos estudiados para esta presentación, con los Toros Cr 145, Cr 255, Cr 271, Cr 113, Cr 237 y Cr 119, cada uno conformando un grupo familiar, se observa acentuado polimorfismo genotípico en el Sistema de Transferrinas, por cuanto se detectan los Tipos Tf A/A, Tf A/D₁, Tf A/D₂ Tf D₁/D₁, Tf D₁/D₂, Tf D₂/D₂, Tf E/E, Tf E/F, Tf F/F, con frecuencia génica total familiar de Tf A .4531, Tf D₁ .4492, siendo menor Tf D₂ .0664, TfE .0117 y TfF .0195.

El alele TfE, de escasa frecuencia en Longhorn Americano, se detectó en este último muestreo de Criollos, lo que agrega otro Marcador Genético en común con el Criollo Americano. También se descubre en esta población un nuevo alele, al que temporariamente se designa como TfF, cuyas dos bandas rápidas son comunes con las dos bandas lentas de TfE y las otras dos bandas componentes constituyen las dos lentas de este fenotipo (Figuras 3 y 4).

No obstante que los genes TtE y TtF están presentes en los rodeos de Bovinos Criollos analizados, no hay exacta concordancia con el registro asignado en el grupo familiar, por lo cual, en primera instancia se interpreta como un posible error de muestreo, lo

que no descalifica la presencia de ambos alelos en la población, promoviendo a su conservación en el germoplasma del Bovino Criollo.

La excepción observada corresponde a los apareamientos siguientes:

Toro Cr 225 x Tf A/A	Vaca Cr 95 Tf A/D ₂	—————>	Hijo Cr 667 Tf F/F
Toro Cr 255 x Tf A/A	Vaca Cr 126 Tf A/D ₂	—————>	Hijo Cr 735 Tf E/E
Toro Cr 113 x Tf A/D ₁	Vaca Cr 234 Tf F/F	—————>	Hijo Cr 653 Tf A/D ₂
Toro Cr 237 x Tf A/D ₁	Vaca Cr 302 Tf A/D ₁	—————>	Hijo Cr 679 Tf E/F

Como representación de segregación por el Método "Toro-familia", se transcribe el Protocolo 106 de esta investigación.

PROTOCOLO 106
 3-2-77

Toro Cr 145	Tf A/D ₁	[M Cr 118 H Cr 665	Tf D ₁ /D ₁ Tf A/D ₁
[M Cr 97 H Cr 637	Tf A/D ₁ Tf A/D ₁	[M Cr 128 H Cr 764	Tf A/D ₁ Tf D ₁ /D ₁
[M Cr 104 H Cr 764	Tf A/D ₁ Tf A/A	[M Cr 142 H Cr 748	Tf A/D ₁ Tf A/D ₁
		[M Cr 158 H Cr 840	Tf A/D ₁ Tf A/D ₁
		[M Cr 206 H Cr 778	Tf A/D ₁ Tf A/D ₁

CONCLUSION

La distribución de los fenotipos de Transferrinas en las seis familias estudiadas, está dada en los CUADROS 1 y 2. Los aleles TfA y TfD₁ se observan en todas las familias, con evidente mayor frecuencia que los aleles TfD₂, TFE y TfF, de aparición irregular.

Es de hacer notar que los aleles TFE y TfF están presentes en Bovinos Criollos, aún cuando con baja frecuencia. En estudios anteriores, los dos aleles mencionados no habían sido detectados.

Los genotipos Tf A/A, Tf A/D₁ y Tf D₁/D₁, son de mayor expresividad en esta población.

No se observan diferencias génicas notables en los distintos grupos familiares analizados, comprobándose que en el cómputo general de frecuencias entre progenitores e hijos, esas ligeras diferencias son aún menores. De acuerdo a BRAEND y col. (1968), en los sistemas polimórficos, usualmente las frecuencias génicas en las poblaciones no son fácilmente alteradas o fraccionadas. Los genotipos Tf A/A, Tf A/D₁ y Tf D₁/D₁ en este trabajo se constituyen en Marcadores Genéticos de mayor expresividad para el Bovino Criollo.

AGRADECIMIENTO

Se deja constancia de la participación activa de la Secretaría Técnica de este Instituto Alicia G. Antonini de Ruiz. También se destaca la participación de las Licenciadas Ana María Marquez, Cristina Gómez y Alicia Goicoechea. Nuestro agradecimiento al Sr. Julio BERMAN por su contribución fotográfica, siempre esmerada y valiosa.

BIBLIOGRAFIA

1. ASHTON, G. C. 1958. *Genetics of beta-globulin polymorphism in British cattle Nature*, 182:370.
2. ASHTON, G. C. 1958. *Lack of "slow-alpha" proteins in some Guernsey cattle Nature* 182:193.
3. ASHTON, G. C. 1959. *Beta-globulin polymorphism in British cattle. Nature* 182:370.
4. BAKER, E., SHAW, D. C. and MORGAN, E. H. 1968. *Isolation and characterization of rabbit serum and milk transferrins. Evidence for difference in sialic acid content only. Biochemistry*, 7:1371.
5. BRAEND, M. 1959. *Blood groups of cattle in Norway. Serological and genetic studies. Skandinavisk Bladforlag, Oslo* 144 p.
6. BRAEND, M. and EFREMOV, G. 1965. *Polymorphism of cattle serum Albumin. Nord. Vet. Med.* 17:585
7. BRAEND, M. and KHANNA, N. D. 1968. *Hemoglobin and Transferrin types of some west African cattle. Animal Production, Vol. 10 Part 2:129.*
8. BRAENS, M., RENDEL, J., GAHNE, B., ADALSTEINSSON, S. 1962. *Genetic studies on blood groups, transferrins and hemoglobins in Icelandic cattle. Hereditas* 48:264.
9. GAHNE, B. 1961. *Studies of transferrins in serum and milk of Swedish cattle. Anim. Prod.* 3:135.
10. JOHANSSON, I. y RENDEL, J. 1972. *Genética Animal. Editorial Acribia: 227. Zaragoza. España.*

11. KRISTJANSSON, F. K. 1963. *Genetics control of two pre-albumins in pigs. Genetics, 48:1059.*
12. MAKARECHIAN, M. and HOWELL, W. E. 1966. *Improve techniqie for separation and identification of bovine beta-globulin by starch gel electroph resis. Can. J. Biochem. Physibl. 44:1099.*
13. MILLER, W. J. 1966. *Blood groups in Longhorn cattle. Genetics 54:391*
14. MOUSTGAARD, J. MOLLER, F and HAVSKOV SORENSEN, P. 1960. *Report on Danis investigations concerning polymorphism of bovine hemoglobin, serum beta-globulin and beta-lactoglobulin. Immunogen. Edinb. o. 122. Mi miogr. Anim. Bredd. Res. Org. Edinb.*
15. QUINTEROS, I. R. and MILLER, W. J. 1968. *An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. Biochemical Genetics, 2:213*
16. QUINTEROS, I. R. 1977. *Visión general de la inmunogenética con especial referencia a la especie bovina. Mendeliana 2 (1):1*
17. QUINTEROS, I. R., BORTOLOZZI, J. MAGALHAES E. de FAULIN, P. G., 1978. *En prensa, Universidad Federal de San Carlos. S.P. Brasil.*
18. SMITHIES, O. 1955. *Zone electrophoresis in starch-gels. Biochem. J. Vol. 629.*
19. SMITHIES, O. and HICKMAN, C. G., 1958. *Inherited variations in the serum proteins of cattle. Genetics, 43:374.*
20. SPOONER, R. L. and BAXTER, G. 1969. *Abnormal expression of normal transferrin alleles un cattle. Biochemical Genetics 2:371.*
21. SPOONER, R. L., LAND, R. B., OLIVER, R. A. and STRATIL A. 1970. *Foetalneonatal transferrins in cattle. Animal Blood groups Bioch. Genetics 1:241.*
22. STRATIL, A. and SPOONER, R. L. 1971. *Isolation and properties individual components of cattle transferrin: The role of sialic acid. Biochemical genetics. 5:347.*