

# Polymorphisme de la transferrine chez les bovins trypanosensibles et trypanotolérants de l'Afrique de l'Ouest. Répartition et fréquence de leurs allèles

par R. QUEVAL (1)

(1) Centre de Recherches sur les Trypanosomoses animales (C.R.T.A.), B.P. 454, Bobo-Dioulasso, République de Haute-Volta.

## RÉSUMÉ

L'auteur a étudié la répartition des phénotypes et la variation des fréquences génétiques des transferrines par électrophorèse verticale sur gel d'acrylamide chez 129 taurins N'Dama et 163 taurins Baoulé-trypanotolérants et chez 115 Zébus-trypanosensibles, dans le but de préciser les relations susceptibles d'exister entre leur diversité génétique en matière de transferrines et leur réceptivité relative aux trypanosomes pathogènes africains.

Il montre que si les allèles de transferrines TfA, TFD et TFE sont présents chez les trois espèces étudiées, deux allèles supplémentaires : TFB et TFF existent chez les zébus. Chez les races trypanotolérantes l'allèle TFD (0,788) est le plus fréquent alors que chez le zébu local, de type Peul soudanien, les allèles TfA, TFD, TFE et TFF sont équitablement répartis (0,243).

Ainsi certains de ces allèles pourraient être utilisés comme marqueurs génétiques pour distinguer ou caractériser une espèce ou une race, permettre l'étude de la structure des populations bovines ainsi que celle de leur évolution et de leurs relations entre elles et préjuger de leur sensibilité aux trypanosomoses africaines.

## INTRODUCTION

Certaines races bovines africaines (Taurins N'Dama, Baoulé, Lagunaire, Somba) disposent naturellement d'une « tolérance » génétique à l'égard des trypanosomes africains pathogènes, ce qui leur permet de vivre dans les zones infestées de glossines alors que d'autres espèces animales domestiques (chevaux, ânes, chameaux) et d'autres races bovines, notamment le zébu-trypanosensible, ne peuvent y subsister.

L'objet de cette étude est de comparer les fréquences des transferrines, avec détermination de leurs allèles, entre taurins N'Dama et Baoulé et Zébus Peul soudanien de l'Afrique de l'Ouest pour les rattacher, autant que faire

se peut à leur plus ou moins grande sensibilité aux trypanosomoses africaines.

L'existence d'une fraction protéique sérique liée au fer a été mise en évidence, pour la première fois, chez l'homme (18) : il s'agit de la transferrine ou sidérophiline. Les transferrines sont des glycoprotéines migrant électrophorétiquement comme des bêta-globulines et ayant la propriété de fixer et de transporter vers la moelle osseuse et divers organes de stockage le fer destiné à la synthèse de l'hémoglobine.

Chez l'homme, la transferrine se compose d'une chaîne polypeptidique pouvant fixer deux atomes de fer (ferrique) par molécule de protéine. D'un poids moléculaire de 80 000 à 90 000, la molécule est formée de deux parties :

l'apotransferrine et la fraction qui fixe les ions fer maintenus ensemble par 17 ponts disulfures.

Les différences de mobilité des transferrines ont permis, par électrophorèse bidimensionnelle en gel d'amidon, la mise en évidence de groupes génétiques chez l'homme (28). Les différences génétiques paraissent liées à la substitution d'un seul acide aminé (21). Des groupes de transferrines ont été décrits également dans différentes espèces d'animaux de laboratoire et domestiques.

Chez les bovins, le polymorphisme des transferrines a été rapporté par différents auteurs : ASHTON (1, 2, 3, 4, 5) ; ASHTON *et al.* (7, 10) ; HICKMAN et SMITHIES (22) ; GAHNE *et al.* (20) ; GAHNE (19) ; SCHMID (27) ; BUSCHMANN (15) ; DATTA *et al.* (17).

Initialement, six phénotypes de transferrines correspondant à 3 allèles codominants furent trouvés dans toutes les races bovines du genre *Bos taurus*. Ainsi pour 3 facteurs génétiques de transferrines TfA, TfD et TfE, six phénotypes sériques sont définis : AA, DD et EE (types homozygotes) et AD, AE et DE (types hétérozygotes).

Puis une distinction fut faite entre les sous-fractions D1 et D2 de la fraction D conduisant à 4 phénotypes homozygotes : AA, D1D1, D2D2 et EE et 6 phénotypes hétérozygotes : AD1, AD2, AE, D1D2, D1E, D2E, contrôlés par 4 allèles codominants : TfA, TfD1, TfD2 et TfE (6, 23, 24).

Dans le genre *Bos indicus* représenté par les zébus africains et asiatiques, outre les allèles rencontrés chez *Bos taurus* s'ajoutent deux allèles B et F ; B s'intercalant entre A et D et F entre D et E (3), définissant ainsi 21 types possibles de transferrines :

	Phénotypes possibles					
	A	B	D1	D2	E	F
A	AA					
B	AB	BB				
D1	AD1	BD1	D1D1			
D2	AD2	BD2	D1D2	D2D2		
E	AE	BE	D1E	D2E	EE	
F	AF	BF	D1F	D2F	EF	FF

En outre, des allèles TfH et TfG-Kenya furent respectivement découverts, en Italie, dans la race bovine piémontaise (26) et dans le bétail Boran en Afrique orientale (8). Enfin, un allèle

rare, TfN, a été observé dans une race bovine norvégienne (14).

En résumé (d'après une vitesse de migration décroissante) on peut décrire 8 allèles codominants courants dont la vitesse de migration est décroissante : H, A, B, D1, D2, F, E et G. Leur fréquence d'apparition diffère selon les populations bovines analysées ; les allèles les plus fréquents sont : A, D1, D2 et E tandis que H, B, F et G n'ont qu'une dispersion restreinte.

Dans les populations bovines sélectionnées pour la productivité, l'allèle E détermine la variabilité du système car celle-ci peut varier fortement, de zéro chez les races Jersey, Guernsey, Devon et South-Devon, à 0,10 chez l'Ayrshire et 0,30 dans les races Rouge Suédoise et certaines races africaines. ASHTON (3) associe la haute fréquence de la transferrine E avec le facteur « résistance aux conditions climatiques défavorables » pour les races européennes danoises et écossaises et les races tropicales Afrikander, Bonsmara, Boran et Drakensberger.

DATTA *et al.* (17) ont montré qu'une haute production lactée était associée au génotype homozygote DD, les vaches de génotype AA servant de référence.

Plusieurs études relatives aux fréquences des divers allèles de transferrines observées dans des populations bovines rencontrées sur le continent africain, ont été publiées, indiquant la répartition des allèles (Tabl. I).

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nous avons retenu, parmi les races trypanotolérantes, d'une part un représentant du rameau à longues cornes : le N'Dama et d'autre part un taurin à courtes cornes : le Baoulé, le zébu local, à courtes cornes, de type peul soudanien représentant la race bovine trypanosensible.

Les échantillonnages ont été réalisés, soit dans les berceaux d'origine des races, soit dans différentes aires géographiques correspondant à leurs zones d'extension.

La collecte des échantillons sanguins sur les taurins N'Dama et Baoulé a été réalisée, en République de Côte-d'Ivoire, à l'Institut des Savanes (IDESSA/GERDAT), Département Elevage, Centre de Recherches Zootechniques de Minankro. B.P. 152, Bouaké, ainsi qu'au

TABLE. N°I—Répartition des fréquences des allèles de transferrine dans les races bovines africaines

Races	TfA	TfB	TfD	TfE	TfF	Auteurs
Muturu	0.22-0.53	-	0.47-0.78	-	-	Braend et al. (1968)
N'Dama	0.09	-	0.71-0.84	0.08-0.21	-	Braend et al. (1968)
Angoni	0.25	0.01	0.27	0.24	0.22	Carr et al. (1966)
Ankole	0.24	0.09	0.09	0.37	0.21	Ashton et al. (1965)
Boran	0.08-0.19	0.02-0.07	0.19-0.56	0.23-0.29	0.01-0.37	Ashton et al. (1965)
Bororo	0.19	0.04	0.21	0.13	0.44	Braend et al. (1968)
Gudali	0.17	0.21	0.14	0.23	0.25	Braend et al. (1968)
Nganda	0.42	0.09	0.12	0.21	0.17	Ashton et al. (1965)
Tanganyika Zébu	0.22	0.04	0.15	0.20	0.39	Ashton et al. (1965)
Teso	0.18	0.04	0.12	0.34	0.33	Ashton et al. (1965)
Africander	0.40	-	0.33	0.27	0.004	Osterhoff (1964)
Bonsmara	0.45	-	0.36	0.19	-	Osterhoff (1964)
Drakensberger	0.31	-	0.49	0.20	-	Osterhoff (1964)
Manguni	0.36	0.02	0.32	0.21	0.06	Carr et al. (1966)
Mashoma	0.36	0.03	0.28	0.30	0.01	Carr et al. (1966)
Nguni	0.385	0.001	0.265	0.330	0.001	Braend et al. (1968)
Tuli	0.17	0.04	0.46	0.19	0.11	Carr et al. (1966)

Centre de Recherches et d'Élevage, Avetonou, Togo (CREAT), B.P. 27, Agou-Gare, République du Togo. En République de Haute-Volta, les prélèvements sanguins relatifs aux zébus ont été effectués soit à la Ferme Expérimentale de Banankéléda (Service de la Production Animale, Direction de l'Élevage, Ouagadougou, République de Haute-Volta), soit dans les élevages en milieu traditionnel.

Les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction veineuse, soit à la veine jugulaire, soit à la veine caudale médiane et recueillis dans des tubes sous vide (Venject). Pendant leur transport, les échantillons sanguins sont placés dans une boîte isotherme contenant des accumulateurs de froid. Au laboratoire, les sérums récoltés sont conservés à  $-25^{\circ}\text{C}$ , après rétraction du caillot, exsudation, décantation et centrifugation.

Le système HAVANA (Desaga, Heidelberg) en électrophorèse verticale a été utilisé pour la détermination des phénotypes de transferrines. Les gels d'acrylamide de 220 mm  $\times$  110 mm et de 1,5 mm d'épaisseur ont la composition suivante :

- 9 ml de solution 1 :  
38 g p. 100 (p/v) d'acrylamide,  
2 g p. 100 (p/v) de bisacrylamide,
- 11 ml d'eau distillée

- 20 ml de solution 2 :  
18,15 g p. 100 (p/v) de TRIS ajusté à pH 9,1 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) avec HCl,  
0,2 ml TEMED,
- 40 ml de solution 3 :  
0,2 g p. 100 de persulfate d'ammonium,

Les systèmes tampons utilisés sont pour :

- la cathode :  
25,8 g TRIS,  
17,4 g glycine,  
100  $\mu\text{l}$  d'une solution saturée de bleu de bromophénol,  
5,0 l eau distillée qsp, pH 8,9 ( $25^{\circ}\text{C}$ ),
- l'anode :  
72,5 g TRIS,  
5,0 l eau distillée pH ajusté à 8,08-8,1 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) avec HCl (12 N).

Les échantillons de sérums dilués au 1/4 dans une solution saccharose à 10 p. 1 000 dans le tampon TRIS-glycine de pH 8,9 sont déposés dans les réservoirs de départ sous un volume de 6 à 8  $\mu\text{l}$ .

La migration s'effectue à une température de 12 à 14  $^{\circ}\text{C}$  et une intensité de 90 à 110 mA. La durée de la séparation est liée au déplacement de l'albumine, jusqu'à environ 100 mm du réservoir de dépôt, dans un laps de temps compris entre 60 et 90 minutes.

La fixation des gels s'effectue dans l'acide trichloracétique à 12 p. 100, suivie d'un lavage dans l'eau ou l'acide acétique à 10 p. 100, puis coloration (2 h) par le Bleu Coomassie Brillant R 250 (0,3 p. 100 p/v) dans une solution à 50 p. 100 d'alcool éthylique contenant 10 p. 100 d'acide acétique.

Des lavages répétés avec une solution décolorante (eau, acide acétique, éthanol : 60, 10, 30) sont effectués jusqu'à ce que le fond du gel soit parfaitement incolore.

Chaque allèle régissant la production de 4 zones, les tracés électrophorétiques des homozygotes devraient montrer 4 bandes ; celles des hétérozygotes, une combinaison, comme en surimpression, des images des homozygotes. Pratiquement, 3 bandes seulement sont aisément repérables chez les homozygotes : 2 traits inférieurs marqués et un supérieur plus léger (ANSAY *et al.* 1962). La figure 1 montre le diagramme de séparation des transferrines bovines après séparation et coloration du gel de polyacrylamide.

Les produits et réactifs utilisés ont la provenance suivante : acrylamide : Bio - Rad Laboratories, Richmond, California ; bis-acrylamide (N-N' méthylène bis acrylamide) et TEMED (N, N, N', N' -tétraméthyl-éthylène diamine), bleu de bromophénol : Eastman - Kodak CO, Rochester, New York ; persulfate d'ammonium ; Sigma, Saint Louis, Missouri ; Tris (Tris-hydroxyméthylamino-méthane) : Serva, Heidelberg, RFA ; glycine : E. Merck, Darmstadt, RFA.

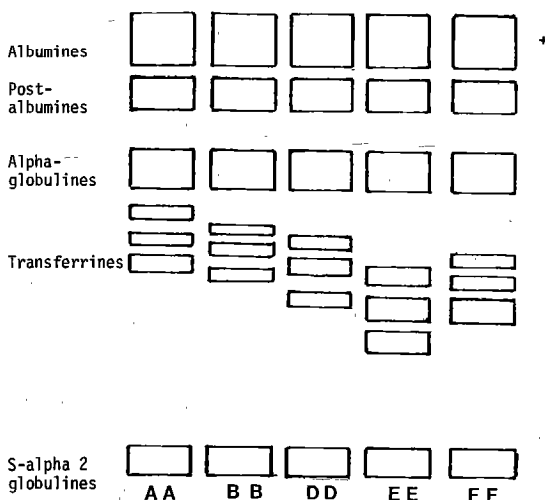


Fig. 1. — Diagramme montrant la position des variants homozygotes de transferrines.



Fig. 2. — Les Phénotypes hétérozygotes de transferrines bovines.

## RÉSULTATS

Chez les taurins N'Dama et Baoulé, six phénotypes de transferrines ont été mis en évidence, à savoir : AA, DD, EE, AD, AE et DE. La répartition de ces divers types de transferrines ainsi que les fréquences correspondantes des quatre allèles, dans l'échantillonnage relatif à chacune de ces races bovines (129 taurins N'Dama et 163 taurins Baoulé), figurent dans les tableaux II et III avec leur écart-type et leur intervalle de confiance à 5 p. 100. Les fréquences géniques rapportées montrent que l'allèle D est, de beaucoup, le plus fréquent dans les deux races taurines analysées : N'Dama,  $D = 0,760 \pm 0,020$  et Baoulé,  $D = 0,807 \pm 0,022$ . Dans la race N'Dama, les allèles TfA et TfE ont des fréquences proches l'une de l'autre ( $A = 0,112 \pm 0,02$  et  $E = 0,128 \pm 0,021$ ). Chez les taurins Baoulé, l'allèle E est de loin le moins fréquent ( $E = 0,052 \pm 0,012$ ) et l'allèle A ( $0,141 \pm 0,019$ ) a une fréquence comparable à celle calculée dans la race N'Dama.

Chez les zébus locaux, 14 phénotypes ont été observés. Le type homozygote BB n'a pu être mis en évidence. Les fréquences correspondantes des allèles TfA, TfD, TfE et TfF sont d'une répartition homogène (0,243) et l'allèle TfB est bien moins fréquent (0,026) (Tabl. IV). Les données des tableaux II, III et IV montrent que 2,4 p. 100 et 1,6 p. 100 de transferrines hétérozygotes ont été trouvés en excès comparativement aux valeurs calculées respectivement chez les taurins N'Dama et les zébus locaux. Les

TABL. N°II-Répartition des phénotypes et fréquences géniques de transferrines dans la race N'Dama.

Valeurs absolues	P h e n o t y p e s						Totaux
	AA	AD	DD	AE	DE	EE	
Nombres observés	1	25	73	2	25	3	129
Nombres calculés	1,6	22,0	74,5	3,7	25,1	2,1	129
$\chi^2 =$	1,826 à 5 ddl donc NS						
A l l e l e s							
	TfA	TfB	TfD		TfE		TfF
Fréquences $\pm \sigma$	0,112 $\pm$ 0,020	-	0,760 $\pm$ 0,027		0,128 $\pm$ 0,021		-
Intervalle de confiance à 5 p.100	(0,073 ; 0,151)	-	(0,707 ; 0,813)		(0,087 ; 0,169)		-

TABL. N°III-Les types de transferrines sériques dans la race Baoulé et les fréquences des allèles correspondants

Valeurs absolues	P h e n o t y p e s						Totaux
	AA	DD	EE	AD	AE	DE	
- observées	4	106	1	37	1	14	163
- calculées	3,25	106,1	0,45	37,1	2,4	13,7	163
$\chi^2 =$	1,669 à 5 ddl donc NS						
A l l e l e s							
	TfA	TfB	TfD		TfE		TfF
Fréquences $\pm \sigma$	0,141 $\pm$ 0,019	-	0,807 $\pm$ 0,022		0,052 $\pm$ 0,012		-
Intervalle de confiance à 5 p.100	(0,103 ; 0,179)	-	(0,764 ; 0,850)		(0,028 ; 0,076)		-

tests de chi carré n'étant pas significatifs pour chacune des races bovines analysées ces populations bovines sont en équilibre génétique suivant la loi de HARDY-WEINBERG.

## DISCUSSION

Des travaux antérieurs similaires, réalisés au Nigéria, par BRAEND et KHANNA (13) ont montré, chez 55 zébus de race Gudali, 15 phénotypes correspondants aux allèles TfA, TfB, TfD2, TfE et TfF. Chez 24 zébus Red Bororo, 9 phénotypes ont été rencontrés et leur répartition liée à 6 gènes : TfA, TfB, TfD1, TfD2, TfE et TfF. Parmi les taurins trypanotolérants, 6 phénotypes de transferrines différents et 3 allèles TfA, TfD1 et TfD2 ont été mis en évidence dans la race Muturu (143 animaux). A

noter que l'allèle E n'a pas été observé. Chez 63 taurins N'Dama, 9 phénotypes de transferrines furent observés et expliqués par les allèles TfA, TfD1, TfD2 et TfE.

Les taurins trypanotolérants de l'ouest africain ne possèdent pas les allèles TfB et TfF, tout comme les bovins des races européennes. Dans nos investigations, les pourcentages de phénotypes hétérozygotes et homozygotes, à l'exception de EE sont légèrement supérieurs dans la race Baoulé à ceux observés dans la population bovine N'Dama. Par contre, les fréquences géniques sont, de façon générale, identiques pour TfA et TfD, mais pas pour TfE. Ce dernier allèle, absent dans la race Muturu, a-t-il été éliminé et sa faible fréquence dans la race N'Dama ainsi que sa rareté chez les taurins Baoulé, sont-ils les indices d'un processus d'élimination, de disparition ?

TABL. N°IV-Répartition des phénotypes et estimation des fréquences géniques chez le Zébu (*Bos indicus*)

Valeurs absolues	P h é n o t y p e s																Totaux			
	AA	AB	AD	AE	AF	BB	BD	BE	BF	DD	DE	DF	EE	EF	FF					
- observées	6	1	14	12	16	-	1	1	3	7	14	10	7	17	6	115				
- calculées	6.6	1.4	12.6	13.8	14	0.1	1.4	1.5	1.5	6.1	13.4	13.3	7.3	14.7	7.3	115				
$\chi^2 =$	4,34 à 14 ddl donc NS																			
	A l l è l e s																			
	TfA				TfB				TfD				TfE				TfF			
Fréquences $\pm \sigma$	0,239 $\pm$ 0,028				0,026 $\pm$ 0,010				0,230 $\pm$ 0,028				0,252 $\pm$ 0,029				0,252 $\pm$ 0,029			
Intervalle de confiance à 5 p.100	(0,184 ; 0,294)				(0,005 ; 0,047)				(0,176 ; 0,284)				(0,196 ; 0,308)				(0,196 ; 0,308)			

Les résultats rapportés par BRAEND *et al.* (13) et ceux présentés dans ce travail montrent que les différences phénotypiques observées et les fréquences géniques calculées entre les diverses races taurines trypano-tolérantes sont concordantes.

Dans la population locale de zébus, les allèles TfB et TfF ont été mis en évidence. Les travaux antérieurs relatifs aux populations de zébus révèlent que 20,0 et 13,3 p. 100 des races bovines africaines, du genre *Bos indicus* ne possèdent pas ces allèles TfB et TfF. Les fréquences géniques des zébus locaux sont analogues à celles calculées par ASHTON *et al.* (8, 9) pour la race Angoni.

### CONCLUSION

Au point de vue de la diversité et de la variabilité génétique au niveau des transferrines, les races taurines trypanotolérantes de l'ouest africain se caractérisent par la présence des allèles TfA et TfD, la rarité de l'allèle E, et l'absence des gènes TfB et TfF. Par contre, les zébus locaux présentent les allèles TfB et TfF et des fréquences géniques équivalentes à l'exception de l'allèle B. Ainsi, certains allèles peuvent être utilisés comme marqueurs génétiques pour dis-

tinguer ou caractériser un genre ou bien une race et permettre l'étude de la structure des populations bovines, de leur évolution et de leurs relations.

### REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre vive gratitude aux personnes qui ont bien voulu favoriser le développement de ce travail :

— M. J. L. MESSAGER, Directeur du C.R.Z. de Minankro - Bouaké (R.C.I.) et à ses collaborateurs, responsables du Département Zootechnie, M. C. HOSTE et le Dr Vétérinaire P. DESLANDES.

— MM. E. KARKE et E. K. FREITAS, Directeurs du Projet Germano-Togolais sur la Trypanotolérance et la Production Animale et M. H. GRELL, Zootechnicien au C.R.E.A.T., Agou-Gare, Togo.

Cette étude a été faite avec le support de l'Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux (I.E.M.V.T.), Maisons-Alfort, France et de la Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (G.T.Z.), PN 77.22275, Eschborn, République Fédérale d'Allemagne.

### SUMMARY

#### Transferrin polymorphism in trypanosensitive and trypanotolerant cattle of West Africa

The distribution of phenotypes and the variations in transferrin genetic frequencies was studied by acrylamid gel tube electrophoresis in 129 N'Dama cattle and 163 Baoule cattle (trypanotolerant) and 115 zebu cattle

(trypanosensitive). This study was carried out in order to determine the possible relationship between the genetic variation in transferrin found among cattle and their greater or lesser susceptibility to African pathogenic trypanosoma.

Transferrin Tfa, Tfd and Tfe alleles are found in the three breeds but two more alleles (Tfb and Tff) are found in zebu cattle.

In trypanotolerant breeds Tfd allele (0,788) is prevalent whereas in local zebu (Sudanese Fulani type) Tfa, Tfd and Tff types are equally distributed.

Hence some of these alleles could be used as genetic markers to differentiate and characterize a species or a breed.

They could also be used to study the structure of cattle populations, their evolution and intercrossing and to diagnose in advance their susceptibility to African trypanosomiasis.

## RESUMEN

### Polimorfismo de la transferina en los bovinos tripanosensibles y tripanotolerantes del Africa del oeste. Repartición y frecuencia de sus alelos

El autor estudió la repartición de los fenotipos y la variación de las frecuencias genéticas de las transferinas por electroforesis vertical sobre gel de acrilamide en 129 bovinos N'Dama y 163 Baule tripanotolerantes y en 115 cebues tripanosensibles, con objetó de precisar las relaciones capaces de existir entre su diversidad genética en materia de transferinas y su receptividad para con los tripanosomas patógenos africanos.

Muestra que si los alelos de transferinas Tfa, Tfd y Tfe se encuentran en las tres especies estudiadas, dos alelos suplementarios Tfb y Tff existen en los cebues. En las razas tripanotolerantes, el alelo Tfd (0,788) es el más frecuente mientras que en el cebú local, de tipo Peul sudanés, los alelos Tfa, Tfe y Tff son distribuidos equitativamente (0,243).

Así, so podrian utilizar algunos de dichos alelos como marcadores genéticos para distinguir o caracterizar una especie o una raza, permitir el estudio de la estructura de las poblaciones bovinas y el de su evolución y de sus relaciones entre ellas, y pre juzgar de su sensibilidad para con las tripanosomiasis africanas.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ASHTON (G. C.). Serum protein differences in cattle by starch gel electrophoresis. *Nature*, 1957, **180** : 917-919.
2. ASHTON (G. C.). Genetics of beta globulin polymorphism in British cattle. *Nature*, 1958, **182** : 370-372.
3. ASHTON (G. C.). Beta globulin alleles in some zebu cattle. *Nature*, 1959, **184** : 1135-1136.
4. ASHTON (G. C.). Beta globulin polymorphism and economic factors in dairy cattle. *J. Agric. Sci.*, 1960, **54** : 321-328.
5. ASHTON (G. C.). Beta globulin type and fertility in artificially breed dairy cattle. *J. Rep. Fertil.*, 1961, **2** : 117-129.
6. ASHTON (G. C.). Serum transferrin D alleles in Australian cattle. *Aust. J. Biol. Sci.*, 1965, **18** : 665-670.
7. ASHTON (G. C.), FALLON (G. R.). Beta globulin type, fertility and embryonic mortality in cattle. *J. Rep. Fertil.*, 1962, **3** : 93-104.
8. ASHTON (G. C.), LAMPKIN (G. H.). Serum albumin and transferrin polymorphism in East African cattle. *Nature, Lond.*, 1965, **208** : 209-210.
9. ASHTON (G. C.), LAMPKIN (G. H.). Transferrin and post-albumin polymorphism in East African cattle. *Genet. Res. Camb.*, 1965, **6** : 209-215.
10. ASHTON (G. C.), McDOUGALL (E. I.). Beta globulin polymorphism in cattle, sheep and goats. *Nature*, 1958, **182** : 945-946.
11. BOUQUET (Y.), WILLEMS (A. E. R.). Le polymorphisme biochimique chez les espèces animales domestiques. *Annls Méd. vét.*, 1971, **115** (7) : 413-451.
12. BRAEND (M.). Studies on the relationships between cattle breeds in Africa, Asia and Europe : evidence obtained by studies of blood groups and protein polymorphisms. *Wld Rev. anim. Prod.*, 1972, **8** (1) : 10-14.
13. BRAEND (M.), KHANNA (N. D.). Haemoglobin and transferrin types of some West African cattle. *Anim. Prod.*, 1968, **10** (2) : 129-134.
14. BRAEND (M.), KHANNA (N. D.). Serum transferrins of Norwegian red cattle. *Acta Vet. Scand.*, 1967, **8** : 150-156.
15. BUSCHMANN (H.). Die bedeutung der serumtypenbestimmung für die forensische veterinärmedizin. *Z. bl. Vet. Med. Reihe B.*, 1963, **10** : 49-56.
16. CARR (W. R.), CONDY (J. B.), BURROWS (P. M.). Transferrin polymorphism of indigenous cattle in Rhodesia and Zambia. *Anim. Prod.* 1966, **8** (1) : 59-64.
17. DATTA (S. P.), STONE (W. H.). Studies of cattle transferrins. *Immunogenet. Lett.*, 1963, **3** : 26-27.
18. FONTES (G.), THIVOLLE (L.). Sur la teneur du sérum en fer non hémoglobinique et sur sa diminution au cours de l'anémie expérimentale. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **93** : 687.
19. GAHNE (B.). Studies of transferrins in serum and milk of Swedish cattle. *Anim. Prod.*, 1961, **3** : 135-145.
20. GAHNE (B.), RENDEL (J.), VENGE (Ole). Inheritance of beta globulin in serum and milk of cattle. *Nature*, 1960, **186** : 907-908.
21. GIBLETT (E. R.). Serum transferrins. Plenary Session 11th Int. Cong. Blood Transf. Sydney 1966.
22. HICKMAN (G. G.), SMITHIES (O.). Evidence for inherited differences in serum proteins of cattle. *Proc. Genet. Soc. Can.*, 1957, **2** : 39.

23. JAMIESON (A.). The genetics of transferrins in cattle. *Heredity*, 1965, **20** : 419-441.
24. KRISTJANSSON (F. K.), HICKMAN (C. G.). Subdivision of TFD for transferrins in Holstein and Ayrshire cattle. *Genetics*, 1965, **52** : 627-630.
25. OSTERHOFF (D. R.), VAN HEERDEN (J. R. H.). Transferrin types in South African cattle breeds. Proc. 9th Europ. Anim. Blood Group Conf. Prague, 1964, 301-307.
26. SARTORE (G.), BERNOCCO (D.). Research in biochemical polymorphism in the indigenous cattle of Piémont. Proc. 10th Europ. Anim. Blood Grps Bioch. Polym. Conf., Paris, 1966 : 283-287.
27. SCHMID (D. O.). Die genetische Bedeutung erblicher Serumeiweissmerkmale bei Tieren. *Tierärztl. Umschau*, 1962, **9** : 302-306.
28. SMITHIES (O.). Variation in human serum beta globulins. *Nature*, 1957, **180** : 1482.