

**TÜRKİYEDE ESMER VE HOLŞTAYN SIĞIRLARINDA
PROTEİN POLİMORFİZMİ VE BUNUN EBEVEYN
KONTROLÜNDE KULLANIMI***

**(Blood protein polymorphism and its use in parentage
test in dairy cattle breeds).**

Ceyhan ÖZBEYAZ ()**

Orhan ALPAN ()**

Hermann GELDERMANN (*)**

Stephan NEANDER (*)**

SUMMARY

The study was conducted to determine the phenotypes and allele frequencies of Hb, Tf, Pa, Aml, AmlI and Cp in blood and to check their value in parentage tests. The material of the study consisted of 365 Turkish Brown and 165 Holstein cattle which constituted 174 family groups.

Protein variants were determined by the methods of starch - gel and polyacrylamide - gel electrophoresis. The phenotype and allele frequencies were calculated. The distribution of Aml, AmlI and Hb genotypes in Holsteins and Aml genotypes in Browns deviated significantly from the expected frequencies ($P < 0.01$). No polymorphism was identified in the ceruloplasmin locus in both breeds.

Using the polymorphic systems individually, 2.8 to 12 % pedigree errors were detected. When the systems combined, the rate of false pedigrees were increased to 18.4 %. According to the combined system, the exclusion probability was 65.7 percent.

(*) : C. Özbeyaz tarafından hazırlanan doktora tezinden özetlenmiştir. Araştırma kısmen Ankara - Hannover işbirliği proje no. 14, kısmen A. Ü. Araştırma Fonu Proje No. 87 -10 -00 -03 tarafından desteklenmiştir.

(**) : A.Ü. Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, ANKARA.

(***) : Tierärztliche Hochschule, Hannover, GERMANY.

It was concluded that the effectiveness of parentage tests could be maximised by using combined polymorphic system instead of individual systems. It may also be suggested that all the related personnel should be trained to minimise the possibility of pedigree errors.

ÖZET

Bu araştırma Türkiye' de yetiştirilen bazı Esmer ve Holştayn sürülerinde Hb, Tf, Pa, AmI, AmII ve Cp fenotiplerini, bu fenotiplerin dağılımlarını ve allel frekanslarını tespit etmek ve protein polimorfizminin ebeveyn kontrolündeki önemini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Araştırmada 365 Esmer ve 165 Holştayn olmak üzere toplam 530 baş sığır ve bunların içerisinde yer alan 174 aile kullanılmıştır.

Protein fenotipleri nişasta - jel ve poliakrilamid - jel elektroforez yöntemleriyle tespit edilmiştir. Irklara ait fenotipler ve allel genler belirlenmiş ve bunlara ait frekanslar hesaplanmıştır. Yapılan Khi -kare analizleri ile Holştaynlarda AmI, AmII ve Hb lokuslarının, Esmerlerde ise sadece AmI lokusunun Hardy-Weinberg kuralına uygunluk göstermediği saptanmıştır. Ceruloplasmin lokusunda polimorfizm bulunamamıştır.

Ebeveyn testleri sonucunda, sistemler bağımsız olarak ele alındığında % 2.8 ile % 12 arasında hatalı kayıt bulunmuştur. Kombine sistem uygulandığında hatalı kayıt oranı % 18.4 olmuştur. Hatalı kayıtların ortaya çıkarılabilme ihtimali ise kombine sistem için % 65.7 olarak hesaplanmıştır.

Ebeveyn kontrollerinde polimorfik protein sistemlerinin önemli bir araç olduğu anlaşılmıştır. Kombine sistemin kullanılması testin etkinliğini artırmıştır. Hata oranının azaltılmasında ilgili tüm personelin eğitilmesinin önemli rolü olacağı sonucuna varılmıştır.

GİRİŞ

Son yıllarda, evcil hayvanlarda kan grubu ve biyokimyasal polimorfizm üzerine yapılan çalışmalar hızlı bir şekilde gelişmiştir. İlk kez 1955' te Smithies (19) nişasta jel elektroforesis yöntemi ile hayvanlarda biyokimyasal polimorf karakterlerin belirlenebileceğini ortaya koymuştur. Polimorf karakterlerle kantitatif karakterler arasında var olabilecek muhtemel korelasyonlar, biyokimyasal genetik alanındaki çalışmaları kamçılamıştır. Eğer böyle ilişkiler bulunursa damızlık olarak seçilecek hayvanları erken yaşta tanımak mümkün olabilecektir. Zira, hayvanların polimorfik yapısı kesin olarak kolay ve erken yaşlarda tanımlanabilmektedir.

Projeyi test yöntemi ile erkek damızlığın seçiminde başarı, büyük ölçüde erkek damızlığın gerçekten kendisine ait olan yavrularının değerlendirilmesine bağlıdır. Biyokimyasal karakterlerin basit Mendel kanunlarına göre intikal ettikleri ortaya konduktan sonra, pedigrilerin gerçekliği ispatlanabilir olmuştur (16). Hayvancılığı gelişmiş ülkelerde bile, gösterilen dikkate rağmen hatalı kayıtların oranının % 4 -23 arasında değiştiği bildirilmektedir (3, 14). Bu bakımdan hatalılık oranının artmasına bağlı olarak boğaların damızlık değerleri gerçek değerleri yansıtmayacaktır. Nitekim Geldermann et al (8) damızlık değeri 11. sırada yer alan bir boğanın, ebeveyn kontrolünden sonra, yani gerçek kızlarıyla değerlendirildiklerinde 4. sıraya yükseldiğini belirlemiştir.

Çeşitli ülkelerde serum protein polimorfizmi aracılığıyla yapılan ebeveyn kontrollerinde % 8.2 -26.5 arasında hatalı kayıt tespit edilmiştir (3, 12, 22). Protein polimorfizmi kullanarak hatalı kayıtları ortaya çıkarabilme ihtimalleri ise % 30.5 -62.2 düzeylerinde bildirilmiştir (5, 12, 20).

Kan elementlerindeki genetik polimorfizmden heterozigotluk indeksinin hesaplanmasında, ırklar arası genetik mesafelerin tespit edilmesinde ve hastalıklara dirençli genotipler yetiştirilmesinde de yararlanılmaktadır (13).

Bu araştırma, Türkiye' deki Esmer ve Holştayn populasyonlarında polimorfik protein fenotiplerinin ve bunların gen frekanslarının tespit edilmesi, ilgili gruplarda ebeveyn kontrolü yapılması ve şüpheli durumların aydınlatılmasına imkân sağlayacak metotların geliştirilmesi amacıyla düzenlenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Tarım işletmelerinde yetiştirilen 365 Esmer ve 165 Holştayn olmak üzere toplam 530 sığır kullanılmıştır. Ebeveyn kontrolleri için ırk farkı göz önüne alınmaksızın 174 tam aile incelenmiştir. Projeyi teste dahil her bir sığırdan, birinde antikoagülant bulunan 10 cc'lik iki ayrı tüpe kan numuneleri alınmıştır. Antikoagülanlı tüpe bulunan numunelerden saf eritrositler ayrılmış, diğer tüpteki numunelerden ise serumlar çıkartılarak elektroforez işlemine dek -20 °C de saklanmıştır. Hemogloblin fenotiplendirilmesi Efremov (2), amilaz I ve Ceruloplazmin fenotiplendirilmesi Thinnes'in (21) kullandığı metoda göre nişasta -jel elektroforesis tekniği ile yapılmıştır.

Transferrin ve postalbumin Thinnes'e (21) göre, amilaz II fenotipleri ise Siepmann ve Stegemann'a (18) göre poliakrilamidjelinde tespit edilmiştir. Fenotiplerin uluslararası standartlara göre tiplendirilmesi amacıyla Hannover Veteriner Yüksek Okulundan temin edilen referans serumlar kullanılmıştır.

Pedigri kayıtlarının kontrolü ise her sistemde bağımsız olarak boğa -inek - yavru üçlüsünün eritrosit veya serum numuneleri üzerinde yanyana konarak yapılmıştır.

Lokuslardaki gen frekanslarının hesaplanması maksimum benzerlik metodu göre yapılmıştır. Buna göre ilgili genin frekansı homozigot genotip sayısının iki katı ile heterozigot genotip sayılarının toplamının, toplam genotip sayısının iki katına bölünmesi ile elde edilir (16).

$$f_x = \frac{2 \text{ Homozigot sayısı} + \text{ Heterozigot sayısı}}{2 \text{ Toplam genotip sayısı (2N)}}$$

Gen Frekansının standard hatası, $S_p = \sqrt{P(1-p)/2N}$ formülüyle hesap-

lanmıştır (13). Burada; p: gen frekansını, N: toplam fert sayısını belirtmektedir.

Gözlenen genotiplerin Hardy -Weinberg kanununa uygunluğu genel Khi -Kare R x C tabloları kullanılarak kontrol edilmiştir (16).

Polimorfik protein ve enzim sistemleri kullanılarak hatalı pedigrilerin ortaya çıkarılabilme ihtimalleri, "n" sayıda kodominant allel için Jamieson'un (10) bildirdiği aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$P_n = \sum p(1-p)^2 - \sum (p_i p_j)^2 \left[4 - 3(p_i - p_j) \right]$$

Sistemlerin kombine edilmesiyle ortaya çıkarılabilecek hatalı pedigrilerin toplam ihtimalleri;

$P = 1 - (1 - P_1)(1 - P_2) \dots \dots \dots (1 - P_n)$ formülüne göre elde edilmiştir (16).

BULGULAR

İncelenen Esmer ve Holştayn populasyonlarında hemoglobin transferrin, postalbumin, amilaz I ve amilaz II sistemlerine ait fenogruplar ve beklenen fenotip frekansları Tablo 1'de gösterilmiştir. Ceruloplasmin lokusunda polimorfizm gözlenmemiştir.

Khi -kare analizleri sonucunda Esmerlerde yalnız AmI lokusunda, Holştaynlarda ise Hb, AmI ve AmII lokuslarında genetik dengenin bulunmadığı tespit edilmiştir ($P < 0.01$).

Anılan sistemlerde belirlenen alleller, bu allellerin frekansları ve standart hataları ırklarda ayrı ayrı ve her iki ırkın birlikte ele alındığı genel frekans değerleri olarak Tablo 2' de verilmiştir.

Irklara göre ve genel olarak, her sistemde bağımsız ve kombine edilmiş hatalı pedigrileri ortaya çıkarabilme ihtimalleri Tablo 3' de gösterilmiştir.

Ebeveyn kontrollerinde aile sayısının az olması nedeniyle ırk farkı gözetmeksizin ana -baba -yavru üçlüsünden oluşan 174 tam aile kullanılmıştır. Sistemlerde ayrı ayrı ve kombine olarak gözlenen hatalı kayıt sayıları, gözlenen hataların beklenen oranları ve beklenen (olası) toplam hatalı kayıt sayıları Tablo 4' de verilmiştir. Tespit edilen hatalı kayıt sayıları farklı sistemlerde farklı düzeylerde olmuştur. Kombine sistem kullanıldığında 174 ailenin % 18.4 ünün kayıtlarında hata olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Esmer ve Holştaynlarda Beş Polimorfik Sisteme Ait Fenotip Frekansları.

Sistem	Genotip	Esmer		Holştayn		
		Göz.	Bek.	Göz.	Bek.	
Hb	AA	212	208.50	164	163.02	
	AB	124	131.70	-	1.97	
	BB	25	20.80	1	0.01	
	Toplam	361	361.00	165 ^{xx}	165.00	
Tf	AA	11	12.63	19	18.63	
	D ₁ D ₁	88	90.16	33	30.51	
	D ₂ D ₂	26	19.89	9	6.05	
	EE	5	3.29	1	1.10	
	AB	2	0.95	-	0.66	
	AD ₁	82	71.75	49	47.68	
	AD ₂	16	24.19	12	14.18	
	AE	14	12.90	12	9.10	
	BD ₁	3	2.54	1	0.85	
	D ₁ D ₂	73	77.52	16	20.71	
	D ₁ E	29	34.25	11	11.63	
	D ₂ E	16	14.92	2	3.90	
	Toplam	365	365.00	165	165.00	
	Pa	AA	4	5.43	2	0.86
		AB	82	78.19	21	22.05
		BB	279	281.38	142	142.09
		Toplam	365	365.00	165	165.00
AmI	BB	257	248.43	70	57.63	
	BC	88	105.40	55	79.77	
	CC	20	11.17	40	27.60	
	Toplam	365 ^{**}	365.00	165	165.00 ^{**}	
AmII	AA	-	0.02	6	1.03	
	AB	6	5.77	14	22.34	
	BB	352	351.98	128	121.18	
	BC	7	7.18	13	18.10	
	CC	-	0.05	4	0.68	
Toplam	365	365.00	165 ^{**}	165.00		

** P<0.01.

Tablo 2. Beş Polimorfik Sistemde Allel Frekansları ve Standart Hataları

Allel	Esmer	Holştayn	Genel
Hb ^A	0.760±0.015	0.994±0.004	0.877±0.010
Hb ^B	0.240±0.015	0.006±0.004	0.123±0.010
Tf ^A	0.186±0.014	0.336±0.026	0.261±0.013
Tf ^B	0.007±0.003	0.006±0.004	0.007±0.002
Tf ^{D1}	0.497±0.018	0.430±0.027	0.463±0.015
Tf ^{D2}	0.215±0.015	0.146±0.019	0.181±0.012
Tf ^E	0.095±0.010	0.082±0.015	0.088±0.008
Pa ^A	0.122±0.012	0.072±0.014	0.097±0.009
Pa ^B	0.878±0.012	0.928±0.014	0.903±0.009
Aml ^B	0.825±0.014	0.591±0.027	0.708±0.014
Aml ^C	0.175±0.014	0.409±0.027	0.292±0.014
AmII ^A	0.008±0.003	0.079±0.015	0.044±0.006
AmII ^B	0.982±0.005	0.857±0.019	0.919±0.008
AmII ^C	0.010±0.004	0.064±0.013	0.037±0.006

Tablo 3. Jamieson'a (10) göre hesaplanan, hatalı kayıtların ortaya çıkarılabilme ihtimalleri.

Lokus	Esmer	Holştayn	Genel
Hemoglobin	0.147	0.006	0.096
Transferrin	0.305	0.460	0.455
Poetalbumin	0.110	0.078	0.096
Amilaz I	0.124	0.183	0.164
Amilaz II	0.018	0.134	0.079
KOMBİNE	0.546	0.650	0.657

Tablo 4. Polimorfik sistemler yardımıyla gözlenen ve hesaplanan hatalı pedigrilerin dağılımı.

Lokus	n	Gözlenen hatalı kayıt		Hataların beklenen oranı (%)	Beklenen toplam hatalı kayıt sayısı
		Sayısı	Oranı (%)		
Hb	174	15	8.6	9.6	156.25
Tf	174	21	12.0	45.5	46.15
Pa	174	9	5.1	9.6	93.75
AmI	174	16	10.3	16.4	97.56
AmII	174	5	2.8	7.9	63.29
Kombine	174	30	18.4	65.7	45.66

TARTIŞMA VE SONUÇ

İncelenen Esmer populasyonunda, Hb^B allel frekansı esmerler için literatürde (9, 17) bildirilen değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Bu araştırmada incelenen esmerlerin bir kısmının Boz ırk genotipi taşıması, muhtemelen Hb^B frekansının farklı olmasına neden olmuştur. Hb lokusunda Holştaynlar için belirlenen genetik dengesizlik Hb B fenotipinin sadece bir tek sığırdada tespit edilmiş olması ve Hb AB fenotipinin hiç bulunamamasından kaynaklanmış olabilir.

Transferrin sisteminde daha önce Esmer ve Holştaynlar için A, D₁, D₂ ve E allelleri bildirilirken (4, 11, 17) Tf^B alleli ile ilgili literatür bildirişe rastlanılmamıştır. Aynı şekilde incelenen populasyonda tespit edilen Tf^B alleli, anılan sığırların genotipinde yer alan muhtemel yerli ırk genotipinin varlığı ile izah edilebilir. Nitekim bu allelin frekansı Esmer ve Holştaynlarda sırasıyla 0.006 ve 0.007 düzeyinde bulunmuştur. Diğer alleller için bildirilen (4, 9) değerler, gerek kendi aralarında gerekse bu araştırmada bulunan sonuçlarla karşılaştırıldığında farklılıklar göstermektedir.

Postalbumin sisteminde Pa^A alleli için bulunan frekanslar literatürde bildirilen (5, 9) değerlerden oldukça düşüktür.

Amilaz I lokusunda çoğu literatür bildirişe (1, 15) benzer olarak iki kodominant allel (AmI^B ve AmI^C) tespit edilmiştir. Ancak bazı araştırmacıların (6, 7) üçüncü bir allel olarak bildirdikleri AmI^A bu araştırmada belirlenmemiştir. Gebicke ve Geldermann (7) bu konuyla ilgili olarak AmI sisteminde A ve B allellerinin ayırımının zor olduğunu ve hatalı değerlendirmelerin yapılabileceğini vurgulamışlardır.

Bu çalışmada, Gebicke ve Geldermann'ın (7) bildirdikleri gibi AmII sisteminde üç allel saptanmıştır. Bulunan allel frekansları aynı araştırmacıların bildirdiği değerlerle uyum içinde olmuştur.

Literatür bildirişlerde üç ayrı fenotipi belirlenmiş olan ceruloplasmin, bu araştırmada tek tip halinde ortaya çıkarılmıştır. Cp açısından referans serum kullanılmadığı için gözlenen Cp fenotipine her hangi bir fenotip grubunun adı verilememiştir.

Hatalı kayıt oranları, sistemler ayrı ayrı ele alındığında % 2.8 ile % 12.0 arasında değişmiştir. Beş polimorfik sistemin kombine edilmesiyle ortaya çıkan hatalı kayıt oranı % 18.4 düzeyinde bulunmuştur. Böyle bir durum, özellikle kayıtlı yetiştiricilik yapılan sürülerde uygulanan damızlık seçiminde hatalara neden olabilir. Hatanın ortadan kaldırılması ise gerçek değerlerden hareket etme imkanını vermesi açısından büyük önem taşır. Ebeveyn kontrollerinde her bir polimorfik sistem ayrı ayrı kullanılabilir. Ancak hataların büyük çoğunluğu ortaya çıkarılabildiği için kombine polimorfik sistemlerin kullanılması daha başarılı ve etkili olmaktadır.

Hayvancılığı gelişmiş ülkelerde bildirilen (12, 22) hatalı kayıt oranları, bu çalışmada tespit edilen oranların yaklaşık üçte veya dörtte biri düzeyindedir. Bu durum, hayvancılığı gelişmiş ülkelerde de hataların olduğunu ancak alınan tedbirlerle bunun en aza indirilmiş olduğunu göstermektedir.

Biyokimyasal polimorfizm yardımıyla hatalı kayıtların belirlenme ihtimalleri ırklarda ayrı ayrı ve iki ırk birlikte ele alınarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Buna göre, en düşük oran % 7.9 ile AmII sisteminde, en yüksek oranda % 45.5 ile Tf sisteminde bulunmuştur. Tüm sistemlerin birlikte değerlendirildiği kombine edilmiş durumda hatalı kayıt belirleme oranı % 65.7 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler allel frekanslarından hesaplanmıştır. Dolayısıyla ihtimal oranlarını, allel sayısı ve frekansları doğrudan etkilemektedir.

Polimorfik sistemleri kullanarak sürüdeki tüm hatalı kayıtları ortaya koyabilmek bugün için mümkün değildir. Yani hataların ancak bir kısmı açığa çıkarılabilmektedir. Tablo 4' de verilen beklenen (olası) toplam hatalı kayıt sayıları, bu prensipten hareketle hesaplanmıştır. Gerçekçi bir değerlendirme yapabilmek için kombine sistemin incelenmesi gerekmektedir. Kombine sistemin kullanılmasıyla bu çalışmada 30 kaydın hatalı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Gözlenen bu sayı, % 65.7 ihtimalle ortaya konulmuştur. Eğer ihtimal oranı % 100 olsa idi, hatalı kayıt sayısı 45.66' ya ulaşacaktır. Bu nedenle, populasyon içinde bir miktar daha yanlış kimlikli ferden, yani hatalı kaydın olabileceği beklenmektedir.

Araştırmada elde edilen sonuçlar, kombine sisteme katılan her bir yeni sistemin ebeveyn testinin etkinliğini artırdığını göstermiştir. Bu durum, literatür bildirişlere (12, 22) uygunluk göstermektedir.

Elde edilen bulgular, yetiştirme değerlerinin güvenilirliği açısından, damızlık işletmelerinin rutin pedigrı kontrolleri yapması gerektiğini göstermektedir. Hata oranını en aza indirebilmek için suni tohumlama ve kayıt ile ilgilenen tüm personelin bilinçlendirilmesi ve eğitilmesinin de gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

LİTERATÜR

1. ASHTON, G.C. (1965): Serum amylase (thread protein) polymorphism in cattle. *Genetics*. 51: 431 -437.
2. EFREMOV, G.D. (1974): Starch gel electrophoresis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 5 (1): 37 -40.
3. ERHARD, L. (1979): Überprüfung der Abstammung von Nachkommen aus künstlicher Besamung mittels Blutgruppenuntersuchungen. In: K. MÜLLER, U.G. STARK (Hrsg.): Die künstliche Besamung in Bayern. Festschrift der Arbeitsgemeinschaft der Besamungstationen in Bayern. 5. 32 -33.
4. FIORENTINI, A. (1970): Transferrin types and their frequencies in Brown Alpian and Italian Friesian Cattle. *Anim. Breed. Abstr.* 38 (1): 242.
5. GAHNE, B., JUNEJA, R. and GROLMUS, J. (1977): Horizontal polyacrylamide gradient jel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post - transferrin, albumin and post - albumin in the blood plasma of cattle. *Anim. Blood. Grps. Biochem. Genet.* 8: 127 -137.

6. GASPARKKI, J. and STEVENS, W.G. (1968): Bovine serum amylase isoenzymes in several breeds of domestic cattle. *Canad. J. Genet. Cytol.* 10: 148 -151.
7. GEBICKE, P. and GELDERMANN, H. (1977): Inheritance of amylases in blood serum of cattle. *Biochemical Genetics.* 15: 59 -73.
8. GELDERMANN, H., PIEPER, U. and WEBER, W. (1986): Effect of misidentification on the estimation of breeding value and heritability in cattle. *J. Anim. Sci.* 63: 1759 -1768.
9. ITO, S., KANEMAKI, M., MORITA, M. and TOMITA, T. (1988): Blood protein and blood group gene constitutions of Japanese Brown cattle Kumamoto and their genetic relationships with Korean and Simmental cattle. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 58 (9): 771 -780.
10. JAMIESON, A. (1965): The genetics of transferrins in cattle. *Heredity.* 20: 419 -441.
11. JAMIESON, A. (1966): The distribution of transferrin genes in cattle. *Heredity.* 21: 191 -218.
12. KAUP, R. (1983): Fehl Abstammungsroten bei weiblichen Nachkommen von Bullen der Rasse Deutsche Schwarzbunte. Tierärztliche Hochschule, Dissertation. Hannover.
13. KIDD, K., STONE, W., CRIMELLA, C., CARENZI, C., CASATI, M. and ROGNONI, G. (1980): Immunogenetic and population genetic analyses of Iberian cattle. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.* 11: 21 -38.
14. LUETTICH, H. (1973): Kontrolle von Abstammungsangaben bei Deutschen Schwarzbunten und Deutschen Rotbunten Rindern in der Landesucht Schleswig - Holsteins mit Hilfe der Blutgruppenbestimmung. Giessen Univ., Veterinarmed. Fak., Dissertation. Giessen.
15. MAZUMDER, N. and SPOONER, R. (1970): Studies on bovine serum amylase; evidence for two loci. *Anim. Blood. Grps biochem. Genet.* 1: 145-156.
16. PIRCHNER, F. (1969): *Population Genetics in Animal Breeding* Copyright by W. H. Freeman and Company. San Francisco.

17. SCHLEGER, W. and SOOS, P. (1969): Genetic Serum transferrin and hemoglobin polymorphism in Austrian Simmental and Brown cattle. *Anim. Breed. Abstr.*, 37 (4): 3489.
18. SIEPMANN, R. and STAGEMENN, H. (1967): Enzym - Elektrophorese in Einschlusspolymerisaten der Acrylamide. A. Amylasen, Phosphorylasen. *Z. Naturforsch* 226 -949.
19. SMITHIES, O. (1955): Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. Jour.*, 61 : 629 -641.
20. STUKOVŠZKY, J., KOVACS, G. and CSUNTOS, G. (1979): On the efficiency of various methods applied in parentage control tests of cattle. 16 th, *Inter. Conf. Anim. Blood Grps biochem. polym.* 2: 39 -41, Lenin-grad.
21. THINNES, F. (1977): Elektrophoretische Darstellung und genetische Überprüfung von neuen protein -polymorphismen aus Blutfraktionen des Rindes. Göttingen Univ. Landwirtschaft. Fak., Dissertation. Göttingen.
22. TIESSEN, M. (1983): Fehlabstammungsproben in der Rinderzucht und deren Einfluss auf die Zuchtwertschätzung. Tierärztliche Hochschule. Dissertation, Hannover.