

ROMAN NIŻNIKOWSKI¹, GRZEGORZ CZUB¹, JERZY KAMIŃSKI², MARIOLA NIERADKO²,
MARCIN ŚWIĄTEK¹, KRZYSZTOF GŁOWACZ¹, MAGDALENA ŚLĘZAK¹

¹Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
²Regionalny Związek Hodowców Owiec i Kóz w Białymstoku

POLIMORFIZM GENU KAZEINY *CSN1S1* W POZYCJI 663 U POLSKICH OWIEC NIZINNYCH UTRZYMYWANYCH NA PODLASIU

POLYMORPHISM OF THE *CSN1S1* CASEIN GENE IN POSITION 663
IN POLISH LOWLAND SHEEP BREEDS FROM THE PODLASIE REGION

Streszczenie. Badania przeprowadzono na materiale 431 (406♀ i 25♂) polskich owiec niziny trzech odmian: owcy żelaznińskiej, corriedale i polskiej owcy niziny utrzymywanych na Podlasiu. Wszystkie zwierzęta były poddane identyfikacji genu kazeiny alfa-S1 – *CSN1S1*. Na podstawie przeprowadzonych prac badawczych stwierdzono występowanie dwóch alleli (C i T) i trzech genotypów (CC, CT i TT). Wykazano występowanie zrównoważonej liczby alleli C i T u wszystkich badanych odmian, co przekładało się na podobny rozkład genotypów: allel T i genotyp TT występowały zdecydowanie częściej niż allel C i genotypy CC oraz CT. Stwierdzono istotnie większą frekwencję allelu C i mniejszą allelu T u maciorek niż u tryczków wszystkich badanych odmian. Przeprowadzone badania wykazały, że frekwencja alleli i genotypów genu kazeiny alfa-S1 w pozycji 663 jest u badanych odmian polskich owiec niziny wyrównana genetycznie.

Słowa kluczowe: owce, *CSN1S1*, rozkład alleli i genotypów

Wstęp

Podlasie charakteryzuje się utrzymywaniem polskich owiec niziny różnych odmian, które stanowią nadal dość liczące się pogłowie w skali kraju (Hodowla..., 2013), mimo objęcia większości z nich programami ochrony zasobów genetycznych. Aby ocenić różnorodność genetyczną wymienionych wyżej odmian owiec, wybrano gen *CSN1S1*. Posłużył on analizie frekwencji alleli i genotypów wielu autorom (Ceriotti i in., 2004; Heindleder i in., 2001; Niżnikowski i in., 2013; Pariset i in., 2006). W niniej-

szym opracowaniu oceniono frekwencje białka alfa-S1 kazeiny (*CSN1S1*) należące do głównych białek kazeinowych mleka owczego. Zbadano jego rozkłady występowania u trzech odmian polskich owiec nizinnych (Hodowla..., 2013): owcy żelaźnieńskiej, corriedale i polskiej owcy nizinnej wytworzonych według różnych schematów twórczych (Laudowicz i Błachuta, 1983; Niżnikowski i in., 1997; Niżnikowski i Rant, 2003) i utrzymywanych w jednym regionie – na Podlasiu – w systemie chowu alkierzowego. Dodatkowo uwarunkowanie to może służyć pomocą w ocenie zróżnicowania genetycznego poszczególnych odmian owiec nizinnych, jak to już wykazano w wielu opracowaniach tego typu (Heindleder i in., 2001; Niżnikowski i in., 2013).

Material i metody

Badania przeprowadzono na terenie województwa podlaskiego w stadach polskich owiec nizinnych trzech odmian: owcy żelaźnieńskiej (dwa stada), corriedale (dwa stada) i polskiej owcy nizinnej (trzy stada). Ocenie poddano zwierzęta w wieku od 2 do 11 lat (tab. 1). Stada do pobierania prób zostały wybrane losowo. Od zwierząt pobrano krew z żyły jarzmowej do probówek zawierających EDTA w celu izolacji DNA genomowego na potrzeby analiz molekularno-genetycznych. W badaniach oceniono frekwencję genów i genotypów kazeiny alfa-S1 – *CSN1S1*.

Tabela 1. Materiał doświadczalny wykorzystany w badaniach
Table 1. Experimental material used in the study

Rasa Breed	Liczba macierek i tryków Number of ewes and rams		
	razem total ♀	razem total ♂	w poszczególnych stadach in particular herds
Corriedale	109	6	1 – 98♀, 6♂ 2 – 11♀
Polska owca nizinna Polish lowland sheep	183	12	1 – 27♀, 4♂ 2 – 63♀, 4♂ 3 – 93♀, 4♂
Owca żelaźnieńska Żelazna sheep	114	7	1 – 98♀, 6♂ 2 – 16♀, 1♂
Suma w obrębie płci Total within sex	406	25	
Suma Total	431		

DNA izolowano z leukocytów krwi konserwowanej za pomocą EDTA. W celu otrzymania wysokiej jakości DNA nadającego się po zamrożeniu i rozmrożeniu do wielokrotnego użycia krew została wstępnie oczyszczona z powodujących modyfikacje

Niżnikowski, R., Czub, G., Kamiński, J., Nieradko, M., Świątek, M., Głowacz, K., Ślęzak, M. (2015). Polimorfizm genu kazeiny *CSN1S1* w pozycji 663 u polskich owiec nizinnych utrzymywanych na Podlasiu. *Nauka Przyr. Technol.*, 9, 1, #2. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.1.2

DNA związków hemu przez usunięcie produktów lizy erytrocytów. DNA izolowano z leukocytów metodą chromatografii na minikolumnach silikatowych firmy A&A Biotechnology (Gdańsk, Polska). Frakcja otrzymanego w ten sposób DNA posłużyła jako matryca do amplifikacji polimorficznego fragmentu genu. Genotypowanie alleli prowadzono systemem KASPar® (KASP genotyping..., 2013). System ten polega na stosowaniu metody polimorfizmu punktowego SNP z użyciem starterów wymienionych w tabeli 2.

Tabela 2. Starter oraz miejsca genotypowania SNP dla locus *CSN1S1* kazeiny alfa-S1
Table 2. Primer and SNP places of genotyping for the *CSN1S1* locus of alpha-S1 casein

Starter 3'-5' Primer 3'-5'	SNP	Lokalizacja Localization
CACTGATGCCCTCATT/TGAGGAACTCCACAATTATGG	X03237 663 C > T*	Ekson 17 Exon 17

*Ceriotti i in. (2004).

*Ceriotti et al. (2004).

Na podstawie odczytu genotypowanych prób DNA w obrębie maciorek i tryków przedstawiono rozkłady frekwencji alleli i genotypów osobno dla każdej z odmian.

Do obliczeń statystycznych wykorzystano pakiet programu SPSS w wersji 21.0 (Statistical Product..., 2012). Za pomocą testu χ^2 oceniono wpływ odmiany i płci na frekwencję alleli i genotypów.

Wyniki i dyskusja

Wyniki rozkładu frekwencji alleli genu kazeiny zestawiono w tabeli 3. Stwierdzono występowanie dwóch alleli genu kazeiny: C i T. Różnice w występowaniu między odmianami owiec okazały się nieistotne statystycznie (z tym, że frekwencja allelu C była mniejsza aniżeli allelu T), a między płciami – istotne: występowanie allelu C było częstsze, a allelu T rzadsze u maciorek niż u tryczków. Za interesujące uznać można stwierdzenie o prawdopodobnej zmianie frekwencji występowania obu alleli u potomstwa po ocenianych rozplodnikach, co może się przyczynić do dalszego zatarcia różnic pomiędzy płciami.

Ocena wpływu odmiany i płci na rozkłady występowania genotypów genu kazeiny została przedstawiona w tabeli 4. Nie stwierdzono istotności statystycznej rozkładów genotypów ani pomiędzy odmianami, ani pomiędzy płciami. Mimo braku statystycznej istotności stwierdzono różnice: najrzadziej występował genotyp CC, a najczęściej TT. Heterozygoty w tym zakresie zajmowały miejsce pośrednie. Odmienne tendencje obserwowano u innych ras owiec, głównie z basenu Morza Śródziemnego, jak również w rejonie całej Europy Zachodniej (Ceriotti i in., 2004; Pariset i in., 2006). W badaniach Niżnikowskiego i in. (2013) uzyskano znacznie większe zróżnicowanie pomiędzy rasami, jednak podkreślić należy, że były to badania porównawcze z uwzględnieniem dzikich

Tabela 3. Częstość występowania alleli *CSN1S1* u badanych ras owiec
Table 3. Frequency of *CSN1S1* alleles occurrence in tested sheep breeds

Rasa Breed	Liczebność i udział Number and share	Allele – Alleles		
		C	T	ogółem total
Corriedale	♀	54	164	218
	♂	1	11	12
	♀♂	55	175	230
	%	23,91	76,09	100,00
Polska owca nizinna Polish lowland sheep	♀	71	295	366
	♂	1	23	24
	♀♂	72	318	390
	%	18,46	81,54	100,00
Owca żelaznińska Żelazna sheep	♀	36	192	228
	♂	2	12	14
	♀♂	38	204	242
	%	15,70	84,30	100,00
Ogółem Total	♀	161	651	812
	♂	4	46	50
	♀♂	165	697	862
	%	19,14	80,86	100,00

$P \leq 0,05$ dla płci, NS dla ras.

$P \leq 0.05$ for sexes, NS for breeds.

Tabela 4. Częstość występowania genotypów *CSN1S1* u badanych ras owiec
Table 4. Frequency of *CSN1S1* genotypes occurrence in tested sheep breeds

Rasa Breed	Liczebność i udział Number and share	Genotypy – Genotypes			
		C:C	C:T	T:T	ogółem total
1	2	3	4	5	6
Corriedale	♀	5	44	60	109
	♂	0	1	5	6
	♀♂	5	45	65	115
	%	4,35	39,13	56,52	100,00
Polska owca nizinna Polish lowland sheep	♀	5	61	117	183
	♂	0	1	11	12

Tabela 4 – cd. / Table 4 – cont.

1	2	3	4	5	6
Owca żelaźnieńska Żelazna sheep	♀♂	5	62	128	195
	%	2,56	31,79	65,64	100,00
	♀	0	36	78	114
	♂	0	2	5	7
	♀♂	0	38	83	121
	%	0	31,40	68,60	100,00
Ogółem Total	♀	10	141	255	406
	♂	0	4	21	25
	♀♂	10	145	276	431
	%	2,32	33,64	64,04	100,00

przodków tego gatunku zwierząt gospodarskich. Wyniki przedstawione w niniejszym opracowaniu mogą świadczyć o bardzo ugruntowanym wyrównaniu genetycznym badanych odmian polskich owiec nizinnych.

Wnioski

1. Stwierdzono zrównoważoną frekwencję alleli C i T w wszystkich objętych badaniami odmian polskich owiec nizinnych. Wpłynęło to na podobny rozkład genotypów, z tym że allel T i genotyp TT występowały zdecydowanie częściej niż allel C i genotypy CC oraz CT.

2. Wykazano istotnie większą frekwencję występowania allelu C i mniejszą allelu T u macierek niż u tryczków w wszystkich badanych odmian polskich owiec nizinnych.

3. Przeprowadzone badania wykazały, że frekwencja alleli i genotypów genu kazeiny alfa-S1 w pozycji 663 jest u badanych odmian polskich owiec nizinnych wyrównana genetycznie.

Literatura

- Cerioti, G., Chessa, S., Bolla, P., Budelli, E., Bianchi, L., Duranti, E., Caroli, A. (2004). Single nucleotide polymorphisms in the ovine casein genes detected by Polymerase Chain Reaction – Single Strand Conformation Polymorphism. *J. Dairy Sci.*, 87, 8, 2606–2613.
- Heindleder, S., Janke, A., Waßmuth, R. (2001). Molecular data on wild sheep genetic resources and domestic sheep evolution. *Arch. Tierz.*, 44, spec. iss., 2, 271–279.
- Hodowla owiec i kóz w Polsce w 2012 roku. (2013). Warszawa: Polski Związek Oweczarski.
- KASP genotyping chemistry. User guide and manual. (2013). Teddington: LGC. Pozyskano z: www.kbioscience.co.uk
- Laudowicz, A., Błachuta, B. (1983). Efekty uszlachetniania masowego pogłowia owiec w północno-wschodnim rejonie Polski. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 265, 373–379.
- Niżnikowski, R., Czub, G., Głowacz, K., Świątek, M., Ślęzak, M. (2013). Polimorfizm genu kazeiny *CSN1S1* w pozycji 663 u krajowych owiec i muflona europejskiego (*Ovis aries musimon*). *Nauka Przyr. Technol.*, 7, 4, #58.

Niżnikowski, R., Czub, G., Kamiński, J., Nieradko, M., Świątek, M., Głowacz, K., Ślęzak, M. (2015). Polimorfizm genu kazeiny *CSN1S1* w pozycji 663 u polskich owiec nizinnych utrzymywanych na Podlasiu. *Nauka Przyr. Technol.*, 9, 1, #2. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.1.2

Niżnikowski, R., Janikowski, W. T., Rant, W., Haber, M., Bolimowski, R. (1997). Wpływ genotypu i typu urodzenia na wybrane cechy użytkowości maciorek uzyskanych w trakcie prac zmierzających do wytworzenia owiec typu corriedale. W: R. Niżnikowski (red.), *Rola i znaczenie hodowlane chronionych przed wyginieciem ras i odmian owiec* (s. 131–144). Warszawa: Fundacja „Rozwój SGGW”.

Niżnikowski, R., Rant, W. (2003). Efekty pracy hodowlanej prowadzonej w kierunku doskonalenia cech rozrodu u polskich owiec nizinnych odmiany żelaznieńskiej. *Rocz. Nauk Zootech.*, 30, 2, 283–296.

Pariset, L., Capuccio, I., Ajmone-Marsan, P., Bruford, M., Dunner, S., Cortes, O., Erhardt, G., Prinzenberg, E.-M., Gutscher, K., Joost, S., Pinto-Juma, G., Nijman, I. J., Lenstra, J. A., Perez, T., Valentini, A. and Econogene Consortium (2006). Characterization of 37 breed-specific single-nucleotide polymorphisms in sheep. *J. Hered.*, 97, 5, 531–534.

Statistical Product and Service Solution base version 21.0 for Windows. (2012). New York: IBM.

POLYMORPHISM OF THE *CSN1S1* CASEIN GENE IN POSITION 663 IN POLISH LOWLAND SHEEP BREEDS FROM THE PODLASIE REGION

Summary. The studies were conducted on 431 sheep (406♀ and 25♂) of three varieties of Polish lowland sheep: Żelazna sheep, corriedale sheep and Polish lowland sheep from the Podlasie region. All animals were subjected to the identification of the alpha-S1 casein gene – *CSN1S1*. On the basis of the research two alleles (C and T) and three genotypes (CC, CT and TT) were identified. A balanced frequency of alleles C and T in all investigated varieties was identified, which translated into a balanced distribution of genotypes: the T allele and the TT genotype occurred more frequently than C allele and CC and CT genotypes. There was significantly higher frequency of C allele and lower of T allele in ewes compared to rams in all studied varieties. The study concluded that in the frequency of alleles and genotypes of casein gene alpha-S1 in position 663 the genetic alignments in all three varieties of Polish lowland sheep were observed.

Key words: sheep, *CSN1S1*, distribution of alleles and genotypes

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Roman Niżnikowski, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, Poland, e-mail: roman_niznikowski@sggw.pl

Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:

23.09.2014

Do cytowania – For citation:

Niżnikowski, R., Czub, G., Kamiński, J., Nieradko, M., Świątek, M., Głowacz, K., Ślęzak, M. (2015). Polimorfizm genu kazeiny *CSN1S1* w pozycji 663 u polskich owiec nizinnych utrzymywanych na Podlasiu. *Nauka Przyr. Technol.*, 9, 1, #2. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.1.2