

ROMAN NIŻNIKOWSKI, GRZEGORZ CZUB, KRZYSZTOF GŁOWACZ, MARCIN ŚWIĄTEK,  
MAGDALENA ŚLĘZAK

Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

## **POLIMORFIZM GENU KAZEINY *CSN1S1* W POZYCJI 663 U KRAJOWYCH OWIEC I MUFLONA EUROPEJSKIEGO (*OVIS ARIES MUSIMON*)\***

POLYMORPHISM OF THE *CSN1S1* CASEIN GENE IN POSITION 663  
IN NATIONAL SHEEP BREEDS AND EUROPEAN MOUFLON  
(*OVIS ARIES MUSIMON*)

**Streszczenie.** Badania przeprowadzono na materiale 1802 owiec (1175♀ i 627♂): muflona europejskiego (*Ovis aries musimon*), jego mieszańców z wrzosówką, czterech ras owiec charakteryzujących się okrywą mieszaną oraz merynosa polskiego. Wszystkie zwierzęta poddane były 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). Stwierdzono podobną częstotliwość występowania alleli C i T u muflona europejskiego, co przekładało się na zrównoważony rozkład genotypów, w przeciwieństwie do pozostałych grup, u których allel T i genotyp TT występowały częściej niż allel C i genotypy CC oraz TC. Wykazano, że u muflona europejskiego genotyp CC występował najczęściej wśród badanych grup, spośród których jedynie wrzosówki i polskie owce górskie odmiany białej charakteryzowały się śladowym udziałem tego uwarunkowania. Uznano, że przeprowadzone badania upoważniają do stwierdzenia, że procesy domestyfikacyjne mogły wywrzeć znaczący wpływ na ilość i rozkład występowania alleli i genotypów w zakresie genu kazeiny alfa-S1. Wynik ten wskazuje na potrzeby przeprowadzenia dalszych badań u owiec kulturalnych (np. w porównaniu z merynosem polskim), charakteryzujących się bardziej wyspecjalizowaną użytkowością (np. mięsną czy wełnisto-mięsną).

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

---

\*Praca wykonana w ramach projektu międzynarodowego niewspółfinansowanego nr 625/N-  
-WĘGRY/2009/0.

## Wstęp

W Polsce spośród praprzodków owiec występują jedynie muflony europejskie w stanie dzikim lub w warunkach chowu zagrodowego (populacja jest obecnie szacowana na blisko 1000 szt. zwierząt). Są one uznawane za protoplastów współcześnie hodowanych owiec północno-wschodnio-europejskich krótkoogoniastych. W tej grupie ras znajdują się owce wrzosówki (stan pogłowia w 2012 roku – 9043 szt., tj. 11,76%), charakteryzujące się okrywą mieszaną i użytkowością kozuchową. Spośród innych ras o okrywie mieszanej występują również polskie owce górskie odmiany barwnej (stan pogłowia w 2012 roku – 1508 szt., tj. 1,96%) i białej (stan pogłowia w 2012 roku – 4331 szt., tj. 5,64%), charakteryzujące się użytkowaniem mleczno-węlnistym, oraz świniarki (stan pogłowia w 2012 roku – 1447 szt., tj. 1,88%) o użytkowości wszechstronnej. Żadna z ras oprócz wrzosówki, nie jest jednoznacznie określona pod względem przodka, od którego może pochodzić, stąd wynika potrzeba prowadzenia badań porównawczych w tym zakresie. Z tego też względu użyto wełnisto-mięsnego merynosa polskiego (stan pogłowia w 2012 roku – 5887 szt., tj. 7,66%), owcy kulturalnej o okrywie jednolitej, do którego można odnosić wszelkie wskaźniki badanych uwarunkowań (HODOWLA... 2013). W celu oceny różnorodności genetycznej wymienionych wyżej ras owiec wybrano gen *CSN1S1*, który posłużył do analizy frekwencji występowania alleli i genotypów (HIENDLEDER i IN. 2001, CERIOTTI i IN. 2004, PARISSET i IN. 2006). Białko alfa-S1 kazeiny należy do głównych białek kazeinowych mleka owczego.

## Material i metody

Badaniami objęto stada owiec rasy merynos polski (dwa stada) z terenu woj. wielkopolskiego, stada owiec o okrywie mieszanej z terenu woj. małopolskiego, łódzkiego i podkarpackiego (29 stad) oraz stada muflonów europejskich (trzy stada) i muflonow-rzosówek (dwa stada) z terenu woj. wielkopolskiego i lubuskiego. Ocenie poddano zwierzęta w wieku od 2 do 11 lat (tab. 1). Stada zwierząt do pobierania prób zostały wybrane losowo. Z żyły jarzmowej pobrano krew do próbek zawierających EDTA w celu izolacji DNA genomowego na potrzeby analiz molekularno-genetycznych. W badaniach oceniano frekwencję genów i genotypów kazeiny alfa-S1 – *CSN1S1*.

DNA izolowano z leukocytów krwi konserwowanej za pomocą EDTA. W celu otrzymania wysokiej jakości DNA nadającego się po zamrożeniu i wielokrotnym rozmrażaniu do wielokrotnego użycia krew została wstępnie oczyszczona z powodujących modyfikacje 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®. System ten ([www.kbioscience.co.uk](http://www.kbioscience.co.uk)) polega na stosowaniu metody polimorfizmu punktowego SNP z zastosowaniem starterów wymienionych w tabeli 2.

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

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.

Tabela 1. Materiał doświadczalny wykorzystany w badaniach w latach 2009-2012  
Table 1. Experimental material used in the study in 2009-2012

Rasa Breed	Liczba macierek i tryków – Number of ewes and rams		
	razem total ♀	razem total ♂	w poszczególnych latach in successive years
Muflon europejski European mouflon	122	70	2010 – 2♂; 2011 – 2♀, 6♂; 2012 – 120♀, 62♂
Muflonowrzosówka Mouflon – Polish heat sheep	7	9	2010 – 4♀, 6♂; 2011 – 3♀, 3♂
Wrzosówka Polish heat sheep	373	390	2009 – 129♀, 140♂; 2010 – 128♀, 126♂; 2011 – 116♀, 124♂
Świniarka Świniarka sheep	136	30	2009 – 33♀, 14♂; 2010 – 103♀, 16♂
Polska owca górska odmiany białej Polish mountain sheep – white variety	144	15	2010
Polska owca górska odmiany barwnej Polish mountain sheep – colour variety	172	13	2011
Merynos polski Polish merino	221	100	2010 – 106♀, 42♂; 2011 – 98♀, 50♂; 2012 – 17♀, 8♂
Suma w obrębie płci Total within gender	1 175	627	
Suma Total	1 802		

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

Startery 3'-5' Primers 3'-5'	SNP	Lokalizacja Localization
CACTGATGCCCCCTCATT/TGAGGAACTCCACAATTATGG	X03237 663 C > T*	Ekson 17 Exon 17

\*CERIOTTI i IN. (2004).

\*CERIOTTI et AL. (2004).

Do obliczeń statystycznych wykorzystano pakiet programu SPSS w wersji 12.0 (STATISTICAL PRODUCT... 2004). Za pomocą testu  $\chi^2$  oceniono wpływ rasy i płci na frekwencję występowania alleli i genotypów. Wyniki przedstawiono w tabelach.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki dotyczące rozkładu alleli genu kazeiny zestawiono w tabeli 3. Ocena jego różnic wartości między płciami okazała się nieistotna statystycznie, natomiast obliczenia wykonane na danych ogólnych wykazały statystycznie wysoko istotny wpływ rasy na rozkład częstotliwości występowania zarówno alleli, jak i genotypów (tab. 4). W odniesieniu do alleli rozkład ten okazał się wysoko istotny statystycznie i wskazał na zdecydowane różnice pomiędzy przodkiem owiec, jakim jest muflon europejski, a pozostałymi grupami rasowymi. Tylko u muflona stwierdzono podobną częstotliwość występowania alleli C i T. U pozostałych grup zdecydowanie częściej występował allel T niż C. Podobne tendencje u innych ras owiec, głównie z basenu Morza Śródziemnego, ale również z rejonu całej Europy Zachodniej, wykazali CERIOTTI i IN. (2004) oraz PARISSET i IN. (2006). Nie dotyczyły one jednak dzikich przodków tego gatunku zwierząt gospodarskich.

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

Rasa – Breed ( $P \geq 0,01$ )	Liczebność i udział Number and share	Allele – Alleles		
		C	T	ogółem total
1	2	3	4	5
Muflon europejski European mouflon	♀	118	126	244
	♂	73	67	140
	♀♂	191	193	384
	%	49,7	50,3	100,0
Muflonowrzosówka Mouflon – Polish heat sheep	♀	2	12	14
	♂	2	16	18
	♀♂	4	28	32
	%	12,5	87,5	100,0
Wrzosówka Polish heat sheep	♀	178	568	746
	♂	166	614	780
	♀♂	344	1 182	1 526
	%	22,5	77,5	100,0
Świniarka Świniarka sheep	♀	18	254	272
	♂	2	58	60
	♀♂	20	312	332
	%	6,0	94,0	100,0

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.

Tabela 3 – cd. / Table 3 – cont.

1	2	3	4	5
Polska owca górska odmiany białej Polish mountain sheep – white variety	♀	43	245	288
	♂	6	24	30
	♀♂	49	269	318
	%	15,4	84,6	100,0
Polska owca górska odmiany barwnej Polish mountain sheep – colour variety	♀	33	311	344
	♂	2	24	26
	♀♂	35	335	370
	%	9,5	90,5	100,0
Merynos polski Polish merino	♀	30	412	442
	♂	11	189	200
	♀♂	41	601	642
	%	6,4	93,6	100,0
Ogółem Total	♀	422	1 928	2 350
	♂	262	992	1 254
	♀♂	684	2 920	3 604
	%	19,0	81,0	100,0

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

Rasa – Breed ( $P \geq 0,01$ )	Liczebność i udział Number and share	Genotypy – Genotypes			
		C:C	C:T	T:T	ogółem total
1	2	3	4	5	6
Muflon europejski European mouflon	♀	32	54	36	122
	♂	23	27	20	70
	♀♂	55	81	56	192
	%	28,6	42,2	29,2	100,0
Muflonowrzosówka Mouflon – Polish heat sheep	♀	0	2	5	7
	♂	0	2	7	9
	♀♂	0	4	12	16
	%	0,0	25,0	75,0	100,0
Wrzosówka Polish heat sheep	♀	20	138	215	373
	♂	15	136	239	390
	♀♂	35	274	454	763
	%	4,6	35,9	59,5	100,0

Tabela 4 – cd. / Table 4 – cont.

1	2	3	4	5	6
Świniarka Świniarka sheep	♀	0	18	118	136
	♂	0	2	28	30
	♀♂	0	20	146	166
	%	0,0	12,0	88,0	100,0
Polska owca górska odmiany białej Polish mountain sheep – white variety	♀	2	39	103	144
	♂	0	6	9	15
	♀♂	2	45	112	159
	%	1,3	28,3	70,4	100,0
Polska owca górska odmiany barwnej Polish mountain sheep – colour variety	♀	0	33	139	172
	♂	0	2	11	13
	♀♂	0	35	150	185
	%	0,0	18,9	81,1	100,0
Merynos polski Polish merino	♀	0	30	191	221
	♂	0	11	89	100
	♀♂	0	41	280	321
	%	0,0	12,8	87,2	100,0
Ogółem Total	♀	2	39	103	144
	♂	0	6	9	15
	♀♂	2	45	112	159
	%	1,3	28,3	70,4	100,0

Rozkład genotypów potwierdza przedstawioną tezę (tab. 4). Równomierny rozkład genotypów homozygotycznych z przewagą heterozygotycznego stwierdzono jedynie u muflona europejskiego. Oprócz muflona homozygoty CC znaleziono jeszcze u wrzósówki i w śladowych ilościach u polskiej owcy górskiej odmiany białej. U pozostałych ras owiec znaleziono głównie zwierzęta o genotypie TT oraz w niewielkim stopniu osobniki heterozygotyczne, o niewielkim udziale w populacji. Potwierdza to stwierdzenie, że procesy domestyfikacyjne wpłynęły na zmianę częstotliwości występowania alleli – częściej występował allel T. Podobne wnioski w odniesieniu do innych ras owiec wyciągnęli HEINDLEDER i IN. (2001), którzy badali pochodzenie niemieckich ras owiec.

## Podsumowanie

1. W zakresie genu kazeiny alfa-S1 stwierdzono zrównoważoną częstotliwość występowania alleli C i T u muflona europejskiego, co przekładało się na podobny rozkład

genotypów, w przeciwieństwie do pozostałych grup, u których allel T i genotyp TT występowały zdecydowanie częściej niż allel C i genotypy CC oraz TC.

2. Wykazano, że u muflona europejskiego genotyp CC występował w największym udziale w porównaniu z pozostałymi grupami, spośród których jedynie wrzosówki i polskie owce górskie odmiany białej charakteryzowały się śladowym udziałem tego uwarunkowania.

3. Przeprowadzone badania upoważniają do stwierdzenia, że procesy domestyfikacyjne mogły wywrzeć znaczący wpływ na ilość i rozkład występowania alleli i genotypów w zakresie genu kazeiny alfa-S1 w pozycji 663. Wynik ten wskazuje na potrzeby przeprowadzenia dalszych badań u owiec kulturalnych (np. u merynosa polskiego), charakteryzujących się bardziej wyspecjalizowaną użytkowością (np. mięsną czy wełno-mięsną).

## Literatura

- CERIOTTI 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.
- HIENDLEDER 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. Polski Związek Owczarski, Warszawa.
- PARISET L., CAPPUCCIO 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., 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 12.0 for Windows. 2004. SPSS, Chicago.

## POLYMORPHISM OF THE *CSN1S1* CASEIN GENE IN POSITION 663 IN NATIONAL SHEEP BREEDS AND EUROPEAN MOUFLON (*OVIS ARIES MUSIMON*)

**Summary.** The study was carried out on the material of 1802 sheeps (1175♀ and 627♂) coming from European mouflon (*Ovis aries musimon*), its hybrids with Polish heat sheep, four sheep breeds that are characterised by a mixed wool, as well as Polish merino. 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) were identified and three genotypes (CC, CT and TT). A balanced frequency of alleles C and T in European mouflon were identified, which translated into a balanced distribution of genotypes, in contrast to the other groups, in which the T allele and the TT genotype decidedly had most of the frequency compared to C allele and CC and TC genotypes. It was shown that in the European mouflon CC genotype appeared in the highest proportion in comparison to the other groups, of which only Polish heat sheep and Polish mountain sheep – white were characterised by the participation of trace conditioning. It was concluded that the studies proved that the process of domestication may have a significant impact on the quantity and distribution of alleles and geno-

types in the alpha-S1 casein gene. This result indicates the need for further research in this area in “cultural” sheep (e.g. compared to the Polish merino), characterised by a more specialised usability (e.g. meat or wool-meat).

**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:*

2.10.2013

*Do cytowania – For citation:*

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.