

Polimorfizm genu białka prionowego (*PRNP*) w stadach owiec rasy merynos polski i suffolk

Roman Niznikowski^{1#}, Marcin Świątek¹, Żaneta Szymańska¹,
Magdalena Ślęzak¹, Krzysztof Głowacz²

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Nauk o Zwierzętach;

¹Katedra Hodowli Zwierząt,

²Katedra Biologii Środowiska Zwierząt,
ul. Ciszewskiego 8, 02-787 Warszawa

Celem niniejszej pracy było zbadanie frekwencji alleli białka prionowego *PRNP* w stadach owiec rasy merynos polski i suffolk. Badania przeprowadzono w latach 2012-2017 na maciorach i trykach rasy merynos polski i suffolk utrzymywanych w owczarni Golina Wielka (woj. wielkopolskie). Wszystkie zwierzęta (264 ♀ i 64 ♂ rasy merynos polski oraz 98 ♀ i 73 ♂ rasy suffolk) w wieku do 1 roku były poddane identyfikacji genu białka prionowego *PRNP*. Stwierdzono wysoko istotny wpływ rasy na frekwencje alleli i genotypów trzęsawki oraz istotny wpływ roku na ww. frekwencje u merynosa polskiego. Wykazano występowanie pięciu alleli (ALRR, ALRQ, ALHQ, AFRQ i VLRQ), co prowadziło do zidentyfikowania 10 genotypów białka *PRNP* u merynosa polskiego oraz trzech alleli (ALRR, ALRQ i ALHQ) i trzech genotypów u rasy suffolk. U merynosa polskiego stwierdzono wysoką frekwencję genotypu ALRR/ALRQ, a następnie ALRR/ALRR, przy bardzo niskim poziomie występowania genotypów zawierających walinę w kodonie 136. U rasy suffolk wykazano bardzo wysoką frekwencję genotypu ALRR/ALRR i brak alleli zawierających walinę w kodonie 136. Dodatkowo u merynosa polskiego stwierdzono występowanie uwarunkowania zawierającego w kodonie 141 fenyloalaninę tylko w formie allelu AFRQ, który pojawił się w dwóch genotypach (w kombinacji z ALRR i ALRQ).

SŁOWA KLUCZOWE: owce, *PRNP*, rozkład alleli i genotypów

Parlament UE ustanowił reguły prawne dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania pasażowalnych encefalopatii gąbczastych (Regulation (EC) 999/2001; Commission decision C/2003/498; Commission Regulation (EC) 260/2003). U owiec spotykane są dwie formy pasażowalnej encefalopatii gąbczastej – trzęsawka klasyczna oraz atypowa. Odpowiedzialne za występowanie trzęsawki klasycznej u owiec jest białko prionowe. W jego genie zaobserwowano szereg polimorfizmów w kodonach 136, 154 i 171, które uznano za

[#]Autor korespondencyjny e-mail: roman_niznikowski@sggw.edu.pl

Wpłynęło do Redakcji: 29.01.2020

Przyjęto do druku: 2.04.2020

odpowiedzialne za genetyczną oporność lub wrażliwość na trzęsawkę (Lühken i in., 2004; Kaal i Windig, 2005; Van Kaam i in., 2005; Palhiere i in., 2008). Za gwarantujący najmniejszą wrażliwość na trzęsawkę uznany został allel ARR (powstały w efekcie kodowania alaniny – A, argininy – R i argininy – R), natomiast za odpowiedzialny za duży stopień wrażliwości na tę jednostkę chorobową – allel kodujący walinę (V) w kodonie 136 (Kaal i Windig, 2005; Van Kaam i in., 2005; Palhiere i in., 2008; Rejduch i in., 2009). Z kolei w przypadku trzęsawki atypowej (Nor98), której pierwszy przypadek opisali Benestad i in. (2003), podejrzewa się allele zlokalizowane w kodonie 141 (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008; Mazza i in., 2010) kodujące leucynę (L) i fenyloalaninę (F), spośród których allel F znacznie częściej towarzyszył klinicznym formom tej jednostki chorobowej (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008). Ponadto stwierdzono, że w stadach owiec trzęsawka klasyczna może występować równocześnie z trzęsawką atypową (Mazza i in., 2010).

W Polsce przeprowadzono badania monitorujące występowanie alleli trzęsawki u wielu ras (Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009; Polak i in., 2010; Niżnikowski i in., 2014). Udowodniono brak występowania alleli kodujących walinę u wrzosówki polskiej oraz różną ich frekwencję u pozostałych ras (Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009; Niżnikowski i in., 2014). Warto więc prowadzić prace hodowlane w kierunku wyeliminowania z poszczególnych populacji owiec allelu VLRQ, zmierzając zarazem do zwiększenia frekwencji allelu ALRR, w celu poprawy oporności genetycznej na tę jednostkę chorobową w obrębie poszczególnych stad i ras owiec. Celem niniejszej pracy było zbadanie frekwencji alleli białka prionowego *PRNP* w stadach owiec wełnistomięsnych rasy merynos polski oraz mięsnej rasy suffolk.

Material i metody

Badania przeprowadzono na maciorkach i tryczkach (w wieku do 1 roku) rasy merynos polski (264 ♀ i 64 ♂) i suffolk (98 ♀ i 73 ♂), pochodzących z owczarni Golina Wielka (woj. wielkopolskie), w latach 2012-2017 (tab. 1). Zwierzęta, u których znaleziono allel VLRQ były eliminowane z hodowli i nie dopuszczane do rozrodu.

Przygotowanie próbek

Od zwierząt pobierano krew z żyły jarzmowej do próbek zawierających K_2EDTA . Z leukocytów izolowano DNA za pomocą komercyjnego zestawu do izolacji DNA, według procedury dołączonej przez producenta (Blood Mini kit, A&A Biotechnology, Poland). Genotypowanie alleli trzęsawki prowadzono systemem KASPar®. System ten oraz procedura genotypowania polegają na stosowaniu metody polimorfizmu punktowego SNP z zastosowaniem starterów wymienionych w tabeli 2. Wysoka wiarygodność tej metody w porównaniu do metody sekwencjonowania została udowodniona w badaniach Green i in. (2006).

Analiza statystyczna

Do obliczeń statystycznych wykorzystano pakiet programu SPSS (wersja 26.0). Za pomocą testu χ^2 oceniono wpływ rasy oraz płci w obrębie rasy na frekwencję występowania alleli i genotypów. W odniesieniu do wpływu rasy, w przypadku alleli odczytywano wartości graniczne przy 4 stopniach swobody, a w przypadku genotypów – przy 9 stopniach

Tabela 1 – Table 1

Liczba owiec wykorzystanych w badaniach

Number of sheep used in the study

Rok Year	Rasa – Breed			
	merynos polski Polish Merino		suffolk Suffolk	
	♀	♂	♀	♂
2012	36	4	15	8
2013	23	3	13	8
2014	81	9	26	21
2015	29	0	7	8
2016	78	0	26	15
2017	17	48	11	13
Razem Total	264	64	98	73
	328		171	

Tabela 2 – Table 2

Startery i SNP genu białka prionowego PRNP

Primers and SNPs of the PRNP prion protein gene

Locus	Startery Primers	SNP	Zmiany Changes	Pozycja Position
Białko prionowe PRNP PRNP prion protein	CACAGTCAGTGGAAACAAGCC/ CTTTGCCAGGTTGGGG	AY909542:g.385A>G	A/G	exon 3
		AY909542:g.386G>T	G/T	exon 3
		AY909542:g.479C>T	C/T	exon 3
		AY909542:g.493C>T	C/T	exon 3
		AY909542:g.534G>A	G/A	exon 3

swobody. Natomiast wyniki testu w obrębie ras z uwzględnieniem płci przy 4 stopniach swobody u merynosa polskiego i 2 stopniach swobody u rasy suffolk dla alleli oraz 9 stopniach swobody u merynosa polskiego i 2 stopniach swobody u rasy suffolk dla genotypów. Ocena wpływu roku w obrębie rasy oceniana była przy 20 stopniach swobody dla merynosa polskiego i 8 stopniach swobody dla rasy suffolk w odniesieniu do alleli oraz 45 stopniach swobody dla merynosa polskiego i 8 stopniach swobody dla rasy suffolk w odniesieniu do genotypów. Wyniki zestawiono w tabelach 3-6.

Wyniki i dyskusja

Stwierdzono występowanie 5 alleli u merynosa polskiego (ALRR, ALRQ, AFRQ, ALHQ i VLRQ) i tylko 3 allele (ALRR, ALRQ i ALHQ) u rasy suffolk (tab. 3). Wykazano

wysoko istotny wpływ rasy na rozkłady alleli oraz wysoko istotny wpływ płci na rozkłady alleli w obrębie rasy merynos polski (tab. 3). U merynosa polskiego najwyższą frekwencję wykazano w odniesieniu do allelu ALRR u obu płci, natomiast w dalszej kolejności stwierdzono wysoką częstość występowania allelu ALRQ. Stwierdzono również podobną częstość występowania u macierek alleli AFRQ, ALHQ i VLRQ, jednak znacznie wyższą niż u tryków, u których allel AFRQ nie został znaleziony. Tylko u macierek merynosa polskiego znaleziono allel AFRQ, co wskazywać może – w świetle literatury – na podatność na trzęsawkę atypową (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008). Allel VLRQ został stwierdzony u macierek i tryka merynosa polskiego. Allel ten warunkuje podatność genetyczną na trzęsawkę klasyczną (Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009; Niżnikowski i in., 2014). Znamienne, że allel F występujący w kodonie 141 został stwierdzony tylko w kombinacji AFRQ. Pozostałe genotypy u obu ocenianych ras wykazywały w tym miejscu leucynę (L). U rasy suffolk stwierdzono 3 allele występujące również u merynosa polskiego, z wykluczeniem alleli AFRQ i VLRQ, przy bardzo wysokiej frekwencji allelu ALRR u obu płci. Jednak przyglądając się wynikom dotyczącym merynosa polskiego stwierdzić należy, że allel AFRQ wykazywał w tej populacji małą częstość (1,7%), znacznie odbiegającą od obserwowanych w innych stadach (Niżnikowski i in., 2014). Frekwencja tego allelu stwierdzona na całości materiału wynosiła 1,3% i dotyczyła jedynie macierek. U krajowych ras owiec allel ten albo nie występuje (rasa żelaźnieńska i podlaska), albo w pojedynczych stadach wykazuje frekwencję na poziomie 11,24% (Niżnikowski i in., 2014). W zaistniałej sytuacji istnieje pilna potrzeba wyeliminowania zwierząt, które posiadają fenyloalaninę w kodonie 141.

Tabela 3 – Table 3Częstość występowania alleli *PRNP* u badanych ras owiecFrequency of *PRNP* alleles in the sheep breeds

Rasa Breed			Allele					Razem Total
			ALRR	ALRQ	AFRQ	ALHQ	VLRQ	
Merynos polski Polish Merino	♀	n	324	180	7	9	8	528
		%	61,4	34,1	1,3	1,7	1,5	100,0
	♂	n	68	57	–	2	1	128
		%	53,1	44,5	–	1,6	0,8	100,0
Suffolk	♀	n	178	17	–	1	–	196
		%	90,8	8,7	–	0,5	–	100,0
	♂	n	135	11	–	–	–	146
		%	92,5	7,5	–	–	–	100,0
Razem Total	n	705	265	7	12	9	998	
	%	70,6	26,6	0,7	1,2	0,9	100,0	

Wpływ płci w obrębie rasy: merynos polski – $P \leq 0,01$, suffolk – $P \geq 0,05$ Wpływ rasy – $P \leq 0,01$ Effect of sex within breed: Polish Merino – $P \leq 0,01$, Suffolk – $P \geq 0,05$ Effect of breed – $P \leq 0,01$

Benestadt i in. (2003) udowodnili, że obecność allelu AFRQ sprzyjała występowaniu trzęsawki atypowej u innych ras owiec. Wśród alleli warunkujących podatność na trzęsawkę klasyczną stwierdzono jedynie u merynosa polskiego allel VLRQ o częstości 1,5% u macierek i 0,8% u tryków (Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009; Niżnikowski i in., 2014). Rozpatrując frekwencję występowania alleli warunkujących podatność na trzęsawkę klasyczną (z waliną w kodonie 136) należy wskazać na jej wyjątkowo niski poziom, nawet w porównaniu do wyników innych prac wykonywanych np. na merynosie polskim i merynosie polskim starego typu (Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009).

Podsumowując wyniki niniejszych badań wskazać należy na konieczność usunięcia wszystkich nosicieli alleli AFRQ oraz VLRQ (u merynosa polskiego), czego dotychczas nie robiono. U rasy suffolk oba uwarunkowania nie wystąpiły. Sam fakt stwierdzenia występowania allelu AFRQ i VLRQ u merynosa polskiego, podejrzewanych o podatność na kliniczną formę trzęsawki atypowej i klasycznej, w pełni uzasadnia konieczność genotypowania i eliminowania osobników charakteryzujących się podatnością genetyczną na obie formy tej jednostki chorobowej, co w badanym stadzie uczyniono zgodnie z zaleceniami wynikającymi z innych prac badawczych (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008; Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009; Niżnikowski i in., 2014).

Rozkład frekwencji alleli trzęsawki w zależności od pracy hodowlanej wykonywanej w poszczególnych latach przedstawiono w tabeli 4. Ocena rozkładów w obrębie ras okazała się nieistotna statystycznie w odniesieniu do rasy suffolk, natomiast w przypadku merynosa polskiego istotna na poziomie $P \leq 0,01$. Wynikało to z faktu, że u rasy suffolk nie stwierdzono występowania alleli AFRQ i VLRQ. W odniesieniu do merynosa polskiego stwierdzono występowanie allelu AFRQ tylko w latach 2014-2016, natomiast w przypadku VLRQ stwierdzono wysoko istotny spadek jego frekwencji od roku 2012 do 2014, po czym w latach 2015-2017 nie był już znajdowany, co uznać należy za efekt prowadzonych prac polegających na eliminowaniu z hodowli nosicieli tego allelu. Częstość występowania alleli ALRR i ALRQ była na wysokim poziomie, wykazując wyższy poziom w odniesieniu do allelu ALRR. Frekwencja obu uwarunkowań była różna, jednak oscylowała wokół wartości średniej dla rasy. Z kolei w odniesieniu do allelu ALHQ stwierdzono ciągle obniżanie się częstości występowania postępujące od 2012 do 2017 roku. Generalnie stwierdzić można, że prowadzenie eliminacji i niedopuszczania do rozrodu osobników VLRQ w poszczególnych latach prowadzi do obniżenia częstości występowania alleli ALHQ i VLRQ, przy całkowitym wyeliminowaniu allelu VLRQ w trzech ostatnich latach badań. W zakresie pozostałych alleli nie stwierdzono wpływu zastosowanych metod pracy hodowlanej na poziom ich frekwencji. Podobne stwierdzenia przedstawiono w innych pracach naukowych (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008; Rejduch i in., 2009; Wiśniewska i Mroczkowski, 2009; Niżnikowski i in., 2014) wykonywanych na różnych rasach i typach owiec.

Frekwencje genotypów trzęsawki w zależności od płci przedstawiono w tabeli 5. Wpływ płci w obrębie rasy na częstość występowania genotypów trzęsawki w obu przypadkach okazał się nieistotny. Z kolei wpływ rasy na przedstawione zależności okazał się wysoko istotny. U merynosa polskiego stwierdzono występowanie 10 geno-

Tabela 4 – Table 4Częstość alleli *PRNP* w obrębie rasy w zależności od rokuFrequency of *PRNP* alleles within each breed by year

Rasa Breed			Allele					Razem Total	
			ALRR	ALRQ	AFRQ	ALHQ	VLRQ		
Merynos polski Polish Merino	2012	n	45	27	–	3	5	80	
		%	56,3	33,8	–	3,8	6,3	100,0	
	2013	n	39	9	–	2	2	52	
		%	75,0	17,3	–	3,8	3,8	100,0	
	2014	n	99	74	2	3	2	180	
		%	55,0	41,1	1,1	1,7	1,1	100,0	
	2015	n	35	21	1	1	–	58	
		%	60,3	36,2	1,7	1,7	–	100,0	
	2016	n	102	49	4	1	–	156	
		%	65,4	31,4	2,6	0,6	–	100,0	
	2017	n	72	57	–	1	–	130	
		%	55,	43,8	–	0,8	–	100,0	
	Razem merynos polski Total Polish Merino		n	392	237	7	11	9	656
			%	59,8	36,1	1,1	1,7	1,4	100,0
Suffolk	2012	n	41	5	–	–	–	46	
		%	89,1	10,9	–	–	–	100,0	
	2013	n	39	3	–	–	–	42	
		%	92,9	7,1	–	–	–	100,0	
	2014	n	81	13	–	–	–	94	
		%	86,2	13,8	–	–	–	100,0	
	2015	n	28	2	–	–	–	30	
		%	93,3	6,7	–	–	–	100,0	
	2016	n	79	3	–	–	–	82	
		%	96,3	3,7	–	–	–	100,0	
	2017	n	45	2	–	1	–	48	
		%	93,8	4,2	–	2,1	–	100,0	
	Razem suffolk Total Suffolk		n	313	28	–	1	–	342
			%	91,5	8,2	–	0,3	–	100,0
Razem Total		n	705	265	7	12	9	998	
		%	70,6	26,6	0,7	1,2	0,9	100,0	

Wpływ roku w obrębie rasy: merynos polski – $P \leq 0,01$, suffolk – $P \geq 0,05$ Wpływ rasy – $P \leq 0,01$ Effect of year within breed: Polish Merino – $P \leq 0,01$, Suffolk – $P \geq 0,05$ Effect of breed – $P \leq 0,01$

typów trzęsawki, natomiast u rasy suffolk tylko 3 – ALRR/ALRR, ALRR/ALRQ oraz ALRR/ALHQ (u tryków nie znaleziono tego genotypu). U macierek rasy merynos polski stwierdzono genotypy: ALRR/ALRQ, ALRR/ALRR, ALRQ/ALRQ, VLRQ/ALRR, ALRR/ALHQ, ALRQ/AFRQ, ALRQ/ALHQ, ALRR/AFRQ i VLRQ/ALRQ. Natomiast u tryczków rasy merynos polski nie znaleziono uwarunkowań: ALRR/AFRQ, ALRQ/AFRQ, ALRQ/ALHQ, VLRQ/ALRR i VLRQ/ALRQ. U rasy suffolk zdecydowanie dominował układ ALRR/ALRR (80% u macierek i 62% u tryków), a u merynosa polskiego genotyp ALRR/ALRQ (45,5% u macierek i 51,6% u tryków). U tryków merynosa polskiego nie znaleziono ani jednego osobnika, u którego w kodonie 141 znajdowała się fenyloalanina, natomiast walina w kodonie 136 wystąpiła tylko u jednego osobnika. Najcenniejszy genotyp ALRR/ALRR występował zdecydowanie częściej u rasy suffolk niż u merynosa polskiego. Natomiast genotypy heterozygotyczne allelu ALRR z pozostałymi (z wyjątkiem kombinacji z AFRQ i VLRQ) u merynosa polskiego występowały z częstością 47,4% i 53,2% u tryczków. U rasy suffolk znaleziono oprócz uwarunkowania głównego genotypy heterozygotyczne zawierające ALRR występujące z częstością 18,3% u macierek i 15,1% u tryków. Korzystne uwarunkowania występują z wysoką frekwencją w zasadzie u obu ras, ze szczególnym podkreśleniem wysokiej częstotliwości ALRR/ALRR u obu płci rasy suffolk. Za ciekawe uznać należy konfiguracje genotypów, w jakich występował allel AFRQ. Były to genotypy ALRR/AFRQ i ALRQ/AFRQ tylko u merynosa polskiego i jedynie u macierek. Genotyp ALRR/AFRQ jest odpowiedzią na pytanie, dlaczego w innych pracach uwarunkowanie gwarantujące oporność genetyczną na trzęsawkę klasyczną (allel ALRR) nie chroni przed trzęsawką atypową (kombinacja z allelem AFRQ) (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008). Z punktu widzenia pracy hodowlanej za niewygodne uwarunkowania uznać należy ALRR/AFRQ i VLRQ/ALRR. W obu przypadkach uwarunkowanie odpowiedzialne za genetyczną oporność na trzęsawkę klasyczną w formie heterozygotycznej powiązane jest z nieopornością genetyczną na trzęsawkę atypową (AFRQ) czy klasyczną (VLRQ). Oba genotypy powinny zostać wyeliminowane ze stada, ale w przypadku małych populacji i osobników wybitnych co do poziomu cech użytkowych postępowanie takie może budzić wątpliwości. W takim przypadku należy wykorzystać je w rozrodzie i obowiązkowo zgenotypować potomstwo, aby pozostawić do dalszej hodowli osobniki nie posiadające w kodonie 136 waliny (Lühken i in., 2004; Rejduch i in., 2009; Niżnikowski i in., 2014; Palhiere i in., 2014), a w 141 fenyloalaniny (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008).

Frekwencje genotypów *PRNP* w obrębie rasy w zależności od roku pracy hodowlanej przedstawiono w tabeli 6. Wpływ roku w obrębie rasy na frekwencje genotypów trzęsawki okazał się nieistotny w przypadku rasy suffolk oraz istotny dla rasy merynos polski. Eliminacja z rozrodu zwierząt o uwarunkowaniach zawierających w kodonie 136 walinę doprowadziła do stwierdzenia ich występowania po raz ostatni w roku 2014, natomiast genotypy zawierające w kodonie 141 fenyloalaninę stwierdzane były u tej rasy jedynie w latach 2014-2016. Prowadzi to generalnie do stwierdzenia słuszności, w odniesieniu do rasy merynos polski, eliminowania ze stada osobników zawierających w kodonie 136 walinę i w kodonie 141 fenyloalaninę. Udowodniono, że sugerowa-

Tabela 5 – Table 5
 Częstość występowania genotypów *PRNP* według płci u badanych ras owiec
 Frequency of *PRNP* genotypes according to sex in the sheep breeds

Rasa Breed	n	%	Genotyp – Genotype												Razem Total
			ALRR/ ALRR	ALRR/ ALRQ	ALRR/ AFRQ	ALRR/ ALHQ	ALRR/ ALRQ	ALRR/ AFRQ	ALRR/ ALHQ	ALRQ/ ALRQ	ALRQ/ AFRQ	ALRQ/ ALHQ	ALRQ/ ALRR	ALRQ/ VLRQ	
Merynos polski Polish Merino	♀	95	120	3	5	25	4	4	4	6	2	2	–	–	264
	%	36,0	45,5	1,1	1,9	9,5	1,5	1,5	1,5	2,3	0,8	0,8	–	–	100,0
Suffolk	♂	17	33	–	1	12	–	–	–	–	–	–	–	–	64
	%	26,6	51,6	–	1,6	18,8	–	–	–	–	–	–	–	–	100,0
Razem Total	♀	80	17	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	98
	%	81,6	17,3	–	1,0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	100,0
Razem Total	♂	62	11	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	73
	%	84,9	15,1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	100,0
Razem Total	n	254	181	3	7	37	4	4	4	6	2	2	1	1	499
	%	50,9	36,3	0,6	1,4	7,4	0,8	0,8	0,8	1,2	0,4	0,4	0,2	0,2	100,0

Wpływ płci w obrębie rasy – $P \geq 0,05$

Wpływ rasy – $P \leq 0,01$

Effect of sex within breed – $P \geq 0,05$

Effect of breed – $P \leq 0,01$

ne w wielu pracach wyeliminowanie uwarunkowań kodujących występowanie waliny w kodonie 136 jest możliwe do osiągnięcia poprzez odpowiednią pracę hodowlaną (Lühken i in., 2004; Rejduch i in., 2009; Niżnikowski i in., 2014; Palhiere i in., 2014). Zastosowany program hodowlany został w pełni potwierdzony i warto go wprowadzać do praktyki, w celu wyeliminowania z populacji podatnych na trzęsawkę klasyczną uwarunkowań genetycznych, co pozwoli na spełnienie założeń przepisów prawnych obowiązujących w Unii Europejskiej (Regulation (EC) 999/2001; Commission decision C/2003/498; Commission Regulation (EC) 260/2003). Coroczne wprowadzanie do remontu stada macierek i tryków nie będących nosicielami uwarunkowań warunkujących występowanie waliny w kodonie 136 oraz tryków o genotypie ALRR/ALRR powinno w krótkim czasie spowodować uzyskanie populacji w całości posiadającej allele odporne genetycznie na trzęsawkę klasyczną. Powyższe zalecenia powinny mieć również zastosowanie w ramach pracy hodowlanej prowadzonej na innych rasach owiec. Być może spowodowane jest to stosunkowo niską frekwencją alleli VLRQ, w porównaniu do znacznie wyższych spotykanych u owiec za granicą (Lühken i in., 2004; Kall i Windig, 2005; Van Kaam i in., 2005; Palhiere i in., 2014). Jednak w niektórych stadach, w których trzęsawki atypowej nie stwierdzono, frekwencja genotypów zawierających w kodonie 141 fenyloalaninę osiągać może wysoki poziom (Niżnikowski i in., 2014). W każdym razie genotypowanie w kierunku alleli zawierających w kodonie 141 fenyloalaninę jest w świetle wyników badań w pełni uzasadnione (Goldman, 2008; McIntyre i in., 2008).

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych prac badawczych wykonanych w odniesieniu do merynosa polskiego i rasy suffolk stwierdzono wysoko istotny wpływ rasy i roku na frekwencje alleli i genotypów trzęsawki u merynosa polskiego. Wykazano występowanie pięciu alleli (ALRR, ALRQ, ALHQ, AFRQ i VLRQ) i 10 genotypów białka *PRNP* u merynosa polskiego oraz trzech alleli (ALRR, ALRQ i ALHQ) i trzech genotypów u rasy suffolk. Stwierdzono wysoką frekwencję genotypu ALRR/ALRQ, a następnie ALRR/ALRR, przy bardzo niskim poziomie występowania genotypów zawierających walinę w kodonie 136 u merynosa polskiego, w porównaniu do bardzo wysokiej frekwencji genotypu ALRR/ALRR i braku genotypów warunkujących obecność waliny w kodonie 136 u rasy suffolk. Wykazano u merynosa polskiego występowanie uwarunkowania zawierającego w kodonie 141 fenyloalaninę tylko w formie allelu AFRQ, który pojawił się w dwóch genotypach (w kombinacji z ALRR i ALRQ), co w świetle literatury warunkować może niski poziom oporności genetycznej na trzęsawkę atypową u tych osobników. Prowadzona u merynosa polskiego praca hodowlana, polegająca na usuwaniu z hodowli osobników zawierających allel VLRQ, spowodowała całkowite jego wyeliminowanie w ostatnich trzech latach badań, nie wpływając zarazem na częstość występowania innych alleli. Uzyskane wyniki badań wskazują na zasadność prowadzenia takiej pracy hodowlanej, wartej polecenia w celu genetycznej poprawy owiec.

Tabela 6 – Table 6

Częstość występowania genotypów *PRNP* w obrębie rasy w zależności od roku
 Frequency of *PRNP* genotypes within each breed depending on the year

Rasa Breed	Genotyp – Genotype														Razem Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
2012	n	12	18	–	–	–	–	3	–	2	3	1	1	1	40
	%	30,0	45,0	–	–	–	–	7,5	–	5,0	7,5	2,5	2,5	2,5	100,0
2013	n	13	9	–	–	–	2	–	–	–	2	–	–	–	26
	%	50,0	34,6	–	–	–	7,7	–	–	–	7,7	–	–	–	100,0
2014	n	27	41	1	1	2	2	15	1	1	1	1	–	–	90
	%	30,0	45,6	1,1	1,1	2,2	2,2	16,7	1,1	1,1	1,1	1,1	–	–	100,0
2015	n	11	12	–	–	–	1	4	1	–	–	–	–	–	29
	%	37,9	41,4	–	–	–	3,4	13,8	3,4	–	–	–	–	–	100,0
2016	n	30	40	2	2	–	–	3	2	1	–	–	–	–	78
	%	38,5	51,3	2,6	2,6	–	–	3,8	2,6	1,3	–	–	–	–	100,0
2017	n	19	33	–	–	–	1	12	–	–	–	–	–	–	65
	%	29,2	50,8	–	–	–	1,5	18,5	–	–	–	–	–	–	100,0
Razem merynos polski Total Polish Merino	n	112	153	3	3	6	6	37	4	4	6	2	1	1	328
	%	34,1	46,6	0,9	0,9	1,8	1,8	11,3	1,2	1,2	1,8	0,6	0,3	0,3	100,0

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2012	n	18	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
	%	78,3	21,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0
2013	n	18	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21
	%	85,7	14,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0
2014	n	34	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47
	%	72,3	27,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0
2015	n	13	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15
	%	86,7	13,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0
2016	n	38	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41
	%	92,7	7,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0
2017	n	21	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	24
	%	87,5	8,3	-	-	4,2	-	-	-	-	-	-	100,0
Suffolk													
Razem suffolk	n	142	28	-	-	1	-	-	-	-	-	-	171
Total Suffolk	%	83,0	16,4	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	100,0
Razem Total	n	254	181	3	7	37	4	4	4	6	2	1	499
	%	50,9	36,3	0,6	1,4	7,4	0,8	0,8	0,8	1,2	0,4	0,2	100,0

Wpływ roku w obrębie rasy: suffolk – $P \geq 0,05$; merynos polski – $P \leq 0,05$

Wpływ rasy – $P \leq 0,01$

Effect of year within breed: Suffolk – $P \geq 0,05$; Polish Merino – $P \leq 0,05$

Effect of breed – $P \leq 0,01$

PIŚMIENNICTWO

- Benestad S.L., Sarradin P., Thu B., Shönhait J., Tranulis M. A., Brateberg B. (2003). Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type Nor98. *Veterinary Record*, 153 (7): 202–208 (<http://dx.doi.org/10.1136/vr.153.7.202>).
- Commission Decision of 13 February 2003 laying down minimum requirements for the establishment of breeding programmes for resistance to transmissible spongiform encephalopathies in sheep (Text with EEA relevance) (notified under document number C (2003) 498), available at: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/f7b1d217-f512-440d-91e2-9b4e-ae66867a/language-pl> (last access: 1 December 2019).
- Commission Regulation (EC) No 260/2003 of 12 February 2003 amending Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council as regards the eradication of transmissible spongiform encephalopathies in ovine and caprine animals and rules for the trade in live ovine and caprine animals and bovine embryos, available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/?uri=CELEX%3A32003R0260> (last access 1 December 2019).
- Goldmann W. (2008). PrP genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. *Veterinary Research*, 39 (4): 30 (<https://doi.org/10.1051/vetres:2008010>).
- Green B.T., Heaton M.P., Clawson M.L., Laegreid W.W. (2006). Linkage disequilibrium across six prion gene regions spanning 20 kbp in U.S. sheep. *Mammalian Genome*, 17: 1121–1129 (<https://doi.org/10.1007/s00335-006-0042-6>).
- Kaal L.M.T.E., Windig J.J. (2005). Rare sheep breeds and breeding for scrapie resistance in the Netherlands. Book of abstracts of the 56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Uppsala, Sweden, pp. 375 (<https://doi.org/10.3920/978-90-8686-544-4>).
- Lühken G., Buschmann A., Groschup M.H., Erhardt G. (2004). Prion Protein Allele A136 H154 Q171 is associated with high susceptibility to scrapie in purebred and crossbred German Merinoland sheep. *Archives of Virology*, 149: 1571–1580 (<https://doi.org/10.1007/s00705-004-0303-1>).
- Mazza M., Iulini B., Vaccari G., Acutis P.L., Martucci F., Esposito E., Peletto S., Barocci S., Chiappini B., Corona C., Barbier, I., Caramelli M., Agrimi U., Casalone C., Nunno R. (2010). Co-existence of classical and Nor98 in a sheep from Italian outbreak. *Research in Veterinary Science*, 88 (3): 478–485 (<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.11.015>).
- McIntyre K.M., Gubbins S., Goldmann W., Hunter N., Baylis M. (2008). Epidemiological characteristics of classical scrapie outbreaks in 30 sheep flocks in the United Kingdom. *Plos ONE*, 3 (12): 1–10 (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003994>).
- Niżnikowski R., Czub G., Kamiński J., Nieradko M., Świątek M., Głowacz K., Ślęzak M. (2014). Polymorphism of the prion protein gene PrP in Polish Lowland Sheep raised in the Podlasie region. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 10 (4): 25–33.
- Palhiere I., Brochard M.I., Moazami-Goudarzi K., Laloe D., Amigues Y., Bed'hom B., Neuts E., Leymarie C., Pantano T., Cribiu E.P., Bibe B. Verrier E. (2008). Impact of strong selection for the PrP major gene on genetic variability of four French sheep breeds. *Genetics Selection Evolution*, 40 (6): 663–680 (<https://doi.org/10.1051/gse:2008029>).
- Polak M.P., Larska M., Langeveld J.P.M., Buschmann A., Groschup M.H., Żmudziński, J.F. (2010). Diagnosis of the first cases of scrapie in Poland. *Veterinary Journal*, 186 (1): 47–52 (<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.07.032>).

- Rejduch B., Knapik J., Piestrzyńska-Kajtoch A., Kozubska-Sobocińska A., Krupiński J. (2009). Frequency of genotypes in the *PrP* prion protein gene locus in the Polish sheep population. *Acta Veterinaria Hungarica*, 57 (1): 30–49 (<https://doi.org/10.1556/AVet.57.2009.1.4>).
- Regulation (EC) no 999/2001 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2001 laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies, available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32001R0999> (last access 1 December 2019).
- SPSS 26.0 for Windows. IBM Ltd, available at: ftp://public.dhe.ibm.com/software/analytics/spss/documentation/statistics/26.0/pl/client/Manuals/IBM_SPSS_Statistics_Core_System_User_Guide.pdf (last access: 1 December 2019).
- Van Kaam J.B.C.H.M., Finocchiaro R., Vitale M., Portolano B., Vitale F., Caracappa S. (2005). PrP allele frequencies in non-infected Valle del Belice and infected cross-bred flocks. Book of abstracts of the 56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Uppsala, Sweden, pp. 376 (<https://doi.org/10.3920/978-90-8686-544-4>).
- Wiśniewska E., Mroczkowski S. (2009). Different breeding strategies for scrapie resistance depending on breed-specific PrP allele and genotype frequencies in the Polish Sheep. *Züchtungskunde*, 81 (3):180–189.

Roman Niżnikowski, Marcin Świątek,
Żaneta Szymańska, Magdalena Ślęzak, Krzysztof Głowacz

Polymorphism of the prion protein gene (*PRNP*) in Polish Merino and Suffolk sheep flocks

Summary

The aim of the study was to investigate the distribution of prion protein *PRNP* alleles in flocks of Polish Merino and Suffolk sheep. The research was conducted in 2012-2017 on ewes and rams kept in the Golina Wielka sheepfold (Greater Poland Voivodeship, Poland). All animals (264 ♀ and 64 ♂ Polish Merino; 98 ♀ and 73 ♂ Suffolk) were up to one year old. *PRNP* gene polymorphism was identified in the sheep. The frequency of scrapie alleles and genotypes was found to be highly significantly influenced by the breed and significantly influenced by the year in the case of Polish Merino sheep. Five alleles (ALRR, ALRQ, ALHQ, AFRQ and VLRQ) were detected in Polish Merino sheep, leading to the identification of 10 *PRNP* genotypes. In the Suffolk breed, three alleles (ALRR, ALRQ and ALHQ) and three genotypes were identified. In the Polish Merino breed, the frequency of the ALRR/ALRQ genotype was high and was the highest among all genotypes, followed by ALRR/ALRR. The level of genotypes containing valine at codon 136 was very low. In the Suffolk breed, the frequency of the ALRR/ALRR genotype was very high, and there were no alleles with valine at codon 136. In addition, in Polish Merino sheep, phenylalanine at codon 141 was detected only in the AFRQ allele, which appeared in two genotypes (in combination with ALRR and ALRQ).

KEY WORDS: sheep, *PRNP*, allele and genotype distribution