

## RELATIONS BETWEEN KAPPA-CASEIN POLYMORPHISM (CSN3) AND MILK PERFORMANCE TRAITS IN HEIFER COWS

### ZWIĄZEK POLIMORFIZMU KAPPA-KAZEINY (CSN3) Z UŻYTKOWOŚCIĄ MLECZNA KRÓW PIERWIASTEK

SITKOWSKA Beata<sup>1</sup>, NEJA Wojciech<sup>2</sup>, WIŚNIIEWSKA Ewa<sup>1</sup>

1 University of Technology and Life Sciences, Faculty of Animal Breeding and Biology, Department of Genetics and General Animal Breeding, ul. Mazowiecka 28, 85–084 Bydgoszcz, Kujawsko-Pomorskie, Poland, Phone number: + 48 52 374-97-41, e-mail: beatas@utp.edu.pl

2 University of Technology and Life Sciences, Faculty of Animal Breeding and Biology, Department of Cattle Breeding, ul. Mazowiecka 28, 85–084 Bydgoszcz, Kujawsko-Pomorskie, Poland.

Manuscript received: July 28, 2008; Reviewed: November 27, 2008; Accepted for publication: January 8, 2009

#### ABSTRACT

The undertaken study aimed at determining relations between kappa-casein polymorphism and milk performance traits in population of 304 Holstein-Friesian heifer cows bred in five herds in the Kuyavian-Pomeranian region. Numerical data were first verified statistically with the GLM procedure, incorporating the effect of basic factors (herd, date of birth, calving season, share of hf breed in the cows genotype and genotype of kappa-casein gene) on milk performance traits. The effect of some factors on traits was highly significant. Genotype of CASK gene was highly significant on almost all verified milk performance traits. Based on the kappa-casein gene polymorphism, the investigated population was divided into three groups: AA, AB, BB with the share in population of 216, 70 and 18, respectively. The allele A and B frequency was 0,83 and 0,17 respectively. Cows with the AA genotype of kappa-casein were characterized by the highest milk (6414kg), fat (217kg) and protein (209kg) yield, while the lowest fat and protein contents were observed in milk of cows with the BB genotype.

Key words: cows, milk proteins, kappa-casein gene

#### STRESZCZENIE

Przeprowadzone badania dotyczyły ustalenia zależności między polimorfizmem kappa-kazeiny a cechami użytkowości mlecznej 304 krów pierwiastek rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej użytkowanych w pięciu stadach położonych w województwie kujawsko-pomorskim. Za pomocą wieloczynnikowej analizy wariancji GLM zbadano wpływ podstawowych czynników (stada, daty urodzenia krowy, sezony wycielenia, udziału genów rasy h-f, genotypu pod względem kappa-kazeiny) na cechy związane z użytkowością mleczną pierwiastek. Efekt niektórych czynników okazał się wysoko istotny statystycznie. Wpływ genotypu kappa-kazeiny okazał się wysoko istotny statystycznie na większość badanych cech mleczności w czasie laktacji. Pod względem polimorfizmu genu kappa-kazeiny wyodrębniono trzy grupy krów: AA, AB, BB, których udział w populacji wynosił odpowiednio: 216, 70 i 18. Frekwencja allelu A została oszacowana na 0,83, a genu B na 0,17. Krowy o genotypie  $\kappa$ -Cn AA charakteryzowały się najwyższą wydajnością mleka (6414 kg), tłuszczu (271 kg) i białka (209 kg), natomiast najniższą zawartość tłuszczu i białka w mleku stwierdzono w mleku krów o genotypie  $\kappa$ -Cn BB.

Słowa kluczowe: krowy / białka mleka / gen kappa-kazeiny

## STRESZCZENIE SZCZEGÓŁOWE

Celem badań było oszacowanie związku polimorfizmu kappa-kazeiny z wydajnością i składem chemicznym mleka krów pierwiastek. Przeprowadzone badania dotyczyły ustalenia zależności między polimorfizmem kappa-kazeiny a cechami użytkowości mlecznej 304 krów pierwiastek rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej użytkowanych w pięciu stadach położonych w województwie kujawsko-pomorskim. Za pomocą wieloczynnikowej analizy wariancji GLM zbadano wpływ podstawowych czynników (stada, daty urodzenia krowy, sezony wycielenia krowy, udziału genów rasy h-f, genotypu pod względem kappa-kazeiny) na cechy związane z użytkowością mleczną pierwiastek. Efekt niektórych czynników okazał się wysoko istotny statystycznie. Wpływ genotypu kappa-kazeiny okazał się wysoko istotny statystycznie na większość badanych cech mleczności w czasie laktacji. W dalszych badaniach skupiono się na wpływie kappa-kazeiny na cechy związane z wydajnością mleka w laktacji.

W badaniach własnych pod względem polimorfizmu kappa-kazeiny wyodrębniono trzy grupy krów: AA, AB, BB. Udział homozygot AA w badanej populacji był ponad 3 krotnie większy niż heterozygot AB i 12 krotnie większy niż homozygot BB, przy czym stwierdzono większą frekwencję heterozygot AB (0,23) w porównaniu z homozygotami BB (0,06). Frekwencja

allelu A została oszacowana na 0,83, a allelu B na 0,17. Krowy o genotypie  $\kappa$ -Cn AA charakteryzowały się najwyższą wydajnością mleka (6414 kg), tłuszcza (271 kg) i białka (209 kg). Nieznacznie niższą wydajność mleka stwierdzono u homozygot BB (6398 kg). Krowy o genotypie  $\kappa$ -Cn AB produkowały w pierwszej laktacji w porównaniu z homozygotami AA o 325 kg mniej mleka oraz o 8 kg mniej tłuszcza i 9 kg mniej białka. W badaniach własnych najniższą zawartość tłuszcza i białka w mleku stwierdzono w mleku krów o genotypie  $\kappa$ -Cn BB.

## INTRODUCTION

At present, the increase in protein content in milk and improved quality of its technological properties are pursued through the use of main selection factors of the program for cattle milk performance improvement [8]. Special attention is paid to protein genes, and the relation between their polymorphism and milk production characteristics is sought [2, 4, 8]. According to Litwińczuk et al. [3], it is kappa-casein that attracts greatest attention and interest among researchers. Its genetic variants are said to be related to milk performance traits of cows, milk usability for processing, and to cheese production in particular. The kappa-casein B allele is related to the production of milk, the chemical composition of which is more favourable and technological parameters are better,

**Table 1** Value of  $F_{emp}$  and the level of significance of the effect of the factors studied on milking capacity traits in heifer cows

Wartość  $F_{emp}$  oraz istotność wpływu badanych czynników na cechy mleczności krów pierwiastek

Czynniki Factors	Cechy - traits				
	Wydajność mleka Milk yield (kg)	Wydajność tłuszcza Fat yield (kg)	Zawartość tłuszcza Fat content (%)	Wydajność białka Protein yield (kg)	Zawartość białka Protein content (%)
Stado Herd	2.97*	3.50*	11.15**	7.80**	23.21**
Data urodzenia ojca Date of birth	0.62	0.67	0.95	0.57	1.82
Sezon wycielenia Calving season	1.92	2.25*	0.32	2.66*	0.78
Udział genów rasy hf w genotypie krów The share of hf breed in the cows genotype	2.08	0.42	5.17*	1.66	1.75
Genotyp CASK Genotype of CASK gene	3.62*	3.83*	3.13*	3.81*	0.55

\*\* -  $p \leq 0,01$

\* -  $p \leq 0,05$

i.e. coagulation time is shorter by 10-30%, coagulum firmness greater by 20-100%, and both fresh and mature cheese efficiency are higher by 5-8% [4].

The research aimed at estimating the relationship between kappa-casein polymorphism and productivity and chemical composition of milk of heifer cows bred in selected farms in the Kuyavian-Pomeranian Voivodeship.

## MATERIALS AND METHODS

The analysis included 304 Holstein-Friesian black and white heifer cows bred in five herds located in the Kuyavian-Pomeranian Voivodeship. The blood was taken from the jugular vein to a test tube for EDTA. DNA was extracted using the MasterPure™ DNA Purification Kit (Epicentre Technologies). The CSN3 alleles were identified using the PCR-RFLP method in accordance with methodology provided by Medrano and Aguilar-Cordova [5]. Restrictive fragments that were obtained this manner were separated in a 3,5-percent agarose gel with ethidium bromide ( $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), in the presence of pUC19/MspI DNA pattern. The data on heifer cows milk performance were acquired from the SYMLEK system database. Statistical calculations were performed using SAS. Numerical data were verified statistically with the GLM procedure, incorporating the effect of basic factors

(herd, date of birth, calving season, share of hf breed in the cows genotype and genotype of kappa-casein gene) on milk performance traits in heifer cows. The significance of deviations was verified with the Scheffe test [6]. On the basis of obtained results, the genetic structure of cow population under study was characterised. The frequency of kappa-casein genes and genotypes ( $\kappa\text{-Cn}$ ) was calculated for this purpose.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the results of  $F_{\text{emp}}$  and the level of the factors studied on milking capacity traits in heifer cows. The effect of some factors: herd, calving season and genotype of kappa-casein gene on traits were highly significant. Genotype of CASK gene was highly significant on almost all verified milk performance traits. These results are connected with previous research.

The results of kappa-casein polymorphism markings are presented in table 2. In own research, three populations of cows were distinguished as regards polymorphism, i.e. AA, AB, BB. The share of AA homozygotes in the population under analysis was over 3 times higher than that of AB heterozygotes and 12 times higher than that of BB homozygotes, while the frequency of AB (0,23) heterozygotes exceeded that of BB (0,06) homozygotes. The A allele frequency was estimated at 0,83, and that of

**Table 2** The frequency of kappa-casein alleles and genotypes in the investigated population  
Frekwencja alleli i genotypów kappa-kazeiny w badanych stadach

Genotyp Genotype	Liczba genotypów Number of genotypes	Frekwencja genotypów Frequency of genotypes (%)	Frekwencja allelu Frequency of allele (%)	
			A	B
AA	216	0,71		
AB	70	0,23	0,83	0,17
BB	18	0,06		

**Table 3** Analysis of milk characteristics estimated for the first lactation depending on genetic variant of kappa-casein in the investigated population

Analiza cech wydajności mlecznej oszacowanych dla pierwszej laktacji w zależności od genotypu kappa-kazeiny

Genotyp Genotype	Wydajność mleka Milk yield (kg)	Wydajność tłuszczy Fat yield (kg)	Zawartość tłuszczy Fat content (%)	Wydajność białka Protein yield (kg)	Zawartość białka Protein content (%)
AA	6414,48	271,38	4,26	209,12	3,25
AB	6089,18	263,54	4,34	199,84	3,26
BB	6398,36	259,32	4,11	205,76	3,21

B allele at 0,17. Ziemiński et al. [8], in their research on the population of 856 black and white cows estimated the kappa-caseine genotypes AA, AB and BB frequency to be 54%, 42% and 4% respectively with A and B genes frequency of 0,746 and 0,254. The authors state that a low share of BB homozygotes may be conditioned by the influence of Holstein-Friesian bulls utilised in the improvement of basic milk performance traits. Zatoń [7], reviewing the publications from the 80s and 90s of XX century on  $\kappa$ -Cn alleles frequency in dairy cattle, states that the frequency of A allele occurrence was from 0,11 up to 0,82, and the frequency of B allele from 0,08 up to 0,89 depending on cattle breed under the study. However, it should be noted that the B allele, highly desirable due to milk technological usability, is hardly ever observed in populations [7].

Table 3 shows the results of heifer cows productivity depending upon kappa-caseine genotype. It is characteristic of  $\kappa$ -Cn AA genotype cows that the milk (6414 kg), fat (271 kg) and protein (209 kg) yield are highest. Slightly lower milk yield can be observed in BB homozygotes (6398 kg). Cows with  $\kappa$ -Cn AB genotype produce 325 kg less milk, 8 kg less fat and 9 kg less protein than AA homozygotes in their first lactation. Kamiński [2], in his experiment conducted on the population of 124 cows in various lactations, observed the highest milk yield in cows with  $\kappa$ -Cn BB genotype (6603 kg), and the highest fat (277 kg) and protein (218 kg) yield in homozygotic AA cows. In turn, Ziemiński et al. [8] observed higher milk yield in heterozygotic AB cows (6784 kg) in comparison with AA homozygotes (6779 kg) and BB homozygotes (6456 kg). Litwińczuk et al. [3], quoting other researchers state that  $\kappa$ -Cn AA genotype, unlike BB genotype, is associated with higher milk yield, while AB genotype is associated with intermediate level milk production. The results of own research have not been confirmed statistically; yet, they let infer a positive effect of the  $\kappa$ -Cn A allele on the yield of milk and its basic components in the population under analysis.

In own research, the lowest fat and protein content in milk was observed in  $\kappa$ -Cn BB genotype cows' milk. Kamiński's research [2] brought about similar results, while Ziemiński et al. [8] stated the highest fat and protein content was characteristic of  $\kappa$ -Cn BB genotype cows's milk. The research of Grodzki et al. [1], carried out on 126 heifer cows showed that the milk of AA kappa-casein genotype cows contained less protein, fat and casein than the milk of AB and BB genotype cows.

## CONCLUSIONS

Connected with GLM procedure genotype of CASK gene was highly significant on almost all verified milk performance traits. It should be pointed that in the population under analysis the frequency of the A allele was 0,83, and that of the B allele was 0,17, which was reflected in a high share of AA homozygotes (216) when compared with AB heterozygotes (70) and BB homozygotes (18). At the same time, the highest milk, fat and protein yield was observed in the  $\kappa$ -Cn AA genotype cows.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support from Marshal's Office of Kuyavian-Pomeranian Voivodeship within the framework of Regional Research & Implementation Fund

## REFERENCES

- [1] Grodzki H., Karaszewska A., Grabowski R., Zdziarski K., Wpływ różnych kombinacji wariantów genetycznych białek mleka na jego cechy jakościowe, Przeg. Mlecz., (1998) 7: 196–197.
- [2] Kamiński S., Zabolewicz T., Associations between bovine beta-lactoglobulin polymorphism within coding and regulatory sequences and milk performance traits. J. Appli. Gen., (2000) 41, 2, 91–99.
- [3] Litwińczuk A., Barłowska J., Król J., Litwińczuk Z., Białka polimorficzne mleka jako markery cech użytkowych bydła mlecznego i mięsnego. Med. Wet., (2006) 62, 1, 6–10.
- [4] Litwińczuk A., Litwińczuk Z., Barłowska J., Florek M., Surowce zwierzęce, ocena i wykorzystanie, Państw. Wyd. Rol. i Leśne, (2004), 59.
- [5] Medrano, J.F., Auilar-Cordova E., - Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. Bio/Technology. (1990) 8:144-146.
- [6] SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT(r) 9.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- [7] Zatoń M., Znaczenie polimorfizmu kappa-kazeiny w hodowli bydła, Pr. i Mat. Zoot., (1999) 54, 7–19.
- [8] Ziemiński R., Juszczak J., Czarnik U., Ćwikla A., Zabolewicz T., Walawski K., Związek między polimorfizmem białek mleka i zróżnicowaniem wydajności oraz składu mleka krów utrzymywanych w stadzie bydła rasy czarno-białej Kombinatu Rolnego Kietrz, Acta Scient. Pol., Zoot., (2005) 4, 1, 163–170.