

Slutrapport SLF-projekt V0930028

Milk genomics - genernas betydelse för variationen i sammansättning och teknologiska egenskaper i svensk-dansk mjölk

Bakgrund

Det är väl känt att mjölkens sammansättning inte bara påverkar mjölkens näringsinnehåll utan också mjölkens processbarhet. Mjölkens sammansättning påverkas av miljön, såsom av utfordring och kons fysiologi, men också av genetiska faktorer. Sammansättningen kan skilja sig både mellan olika koraser och mellan individer inom samma ras på grund av genetisk variation. Forskningsområdet *Milk genomics* syftar till forskning om generna som kontrollerar och påverkar mjölkproduktionen hos ett däggdjur och i förlängningen sammansättningen och teknologiska egenskaper av mjölk och olika mejeriprodukter. En bättre förståelse för hur det bovina genomet påverkar nämnda faktorer kan leda till en förbättrad avel av mjölkkor.

Projektet "Milk genomics - genernas betydelse för variationen i sammansättning och teknologiska egenskaper i svensk-dansk mjölk", V0930028, är del utav ett samarbete mellan svenska forskare vid Lunds Universitet, Sveriges Lantbruksuniversitet, Svensk Mjölk och VikingGenetics och danska forskare vid Århus Universitet, Danmark. Detta har möjliggjort att tre av de vanligaste koraserna i Sverige och Danmark, Svensk Röd och Vit boskap (SR), Dansk Holstein (DH) och Dansk Jersey (DJ), har studerats med avseende på genetik, mjölksammansättning och teknologiska egenskaper vid produktion av t.ex. ost och yoghurt.

Hypotesen är att man genom att identifiera och utvärdera de gener som påverkar olika mjölkkomponenter relaterat till mjölkens teknologiska egenskaper ska kunna styra och förbättra mjölkens näringsinnehåll och processbarhet genom välplanerade avelsprogram. Den övergripande målsättningen med projektet är att utveckla och värdera kunskap om genernas betydelse för variationer i mjölkens sammansättning och teknologiska/näringsmässiga egenskaper. Målet är också att bygga upp kunskapen inom forskningsområdet Milk genomics. Det långsiktiga målet är att identifiera genmarkörer med potential att genom avel styra mot en framtida mjölkråvara med önskade kvalitetsegenskaper.

Material och metoder

Inom ramen för detta projekt, V0930028, samlades mjölk- och blodprover in från drygt 400 kor av rasen SR på 20 gårdar runt om i Västergötland, Småland och Östergötland, under våren och hösten 2010 samt under våren 2011. Majoriteten av korna var i laktationsnummer 1-3 (1% i laktationsnummer 4) och i laktationsvecka 7-40 (2% före vecka 7 och 10% efter vecka 40). Alla SR-kor som är inkluderade i studien har ett celltal lägre än 300 000 celler/ml. Foderinformation och mjölkavkastning samlades in för varje gård respektive ko. De danska forskarna i projektet samlade in mjölk- och vävnadsprover från drygt 400 kor av vardera raserna DH och DJ (hösten 2009 och våren 2010) som sedan användes i olika delmoment.

Mjölkproverna som samlades in har analyserats både med avseende på sammansättning och teknologiska egenskaper. Fett-, total protein-, kasein- och laktoshalt mättes på alla prover (SR, DH och DJ) tillsammans med torrs substans, mängden fria fettsyror och ureahalt med FT-IR teknik (MilkoScan). De individuella kaseinkomponenterna och vassleproteinerna i mjölken, från alla tre raser (SR, DH och DJ), analyserades i Sverige med kapillärelektrofores där proteinerna separeras med avseende på laddning och storlek. Metoden gör det möjligt att identifiera och kvantifiera både kaseiner (CN) och vassleproteiner (α_{S1} -CN, α_{S2} -CN, κ -CN

och β -CN respektive α -laktalbumin (α -LA) och β -laktoglobulin (β -LG)). Som del av det svensk-danska samarbetet analyserades alla mjölkprover med avseende på fettsyrasammansättning och vitamin E-innehåll (α -tokoferol) i Danmark. Gaskromatografi användes för att bestämma fördelningen av olika fettsyror och vätskekromatografi för att bestämma mängden Vitamin E. I Danmark bestämdes även metabolitprofiler för alla mjölkprov med nuclear magnetic resonance (NMR) spektroskopi och konduktivitetsmätningar utfördes på alla prover för att bestämma mjölkens ledningsförmåga.

Teknologiska egenskaper avseende löpekoagulering och storleksbestämning av fettkuler och kaseinmiceller analyserades i Sverige på SR-proverna. Löpeinducerad koagulering undersöktes med lågamplitudsoscillation med en Stresstech reometer vid kontrollerad deformation vid 0.01 och frekvensen 1 Hz. Kymosin tillsattes till proverna (0.09 IMCU/ml mjölk) varefter mätningarna utfördes vid 32°C. Analyserna ger en simulering av löpeinducerad aggregering av kaseinmicellerna i mjölken och därmed bildande av ostkoagel. Proverna analyserades även i Danmark med en snabbmetod för koagulering (ReoRox reometer; SR, DH och DJ). Dynamisk ljusspridning användes för att bestämma den volymsviktade diametern, $d(4,3)$, på mjölkens fettkuler och kaseinmiceller.

För att kunna koppla samman den genetiska uppsättningen med variationer i mjölkens sammansättning och teknologiska/näringsmässiga egenskaper extraherades DNA från blodproverna för att utföra två olika genetiska analyser på de individuella korna (SR, DH och DJ). Korna genotypades med ett högdensitetschip med 777 000 DNA-markörer för att därefter utvärderas med genome wide association scans (GWAS) och inom genomisk selektion. Dessutom användes DNA-prov från de individuella korna för genotypning av olika genetiska varianter av α_{S1} -, κ - och β -CN samt β -LG.

Statistiska utvärderingar har utförts med Minitab version 14. General linear model har använts för att bestämma medelvärde och standardavvikelse samt för att utvärdera samband mellan genetiska varianter och mjölkens sammansättning samt teknologiska egenskaper. För alla statistiska utvärderingar har signifikansnivån valts till $P < 0.05$. För GWAS-studierna har envägs-ANOVA använts med följande modell:

$$Y_i = \mu_{f(i)} + b_{f(i)} + \beta h_i + S_{\text{celltal}(i)} + L_{\text{laktationsnummer}(i)} + W_{\text{laktationsvecka}(i)} + Y_{\text{mjölkavkastning}(i)} + P_{\text{pH}(i)} + F_{\text{gård}(i)} + e_i$$

där Y_i är koaguleringsegenskapen för individ i , $\mu_{f(i)}$ är medelvärdet för koagulerings-egenskapen hos gruppen av individer med samma tjurfar av individ i , $b_{f(i)}$ är den slumpmässiga effekten av tjurfadern hos gruppen av individer med samma tjurfar av individ i , βh_i är additiv genetisk effekt av den mest vanliga haplotypen och $S_{\text{celltal}(i)} + L_{\text{laktationsnummer}(i)} + W_{\text{laktationsvecka}(i)} + Y_{\text{mjölkavkastning}(i)} + P_{\text{pH}(i)} + F_{\text{gård}(i)}$ är de slumpmässiga effekterna av celltal, laktationsnummer, laktationsvecka, mjölkavkastning, mjölk pH och gård.

Resultat

Delmoment 1: Provtagning

Mjöl- och blodprover har samlats in från drygt 400 kor av rasen SR på 20 gårdar i Västergötland, Småland och Östergötland under våren och hösten 2010 samt under våren 2011. I tabell 1 presenteras laktationsdata, mjölkavkastning och celltal för SR, DH och DJ. Som ses i tabell 1 har SR och DH något högre mjölkavkastning än DJ och SR har lägre celltal än både DJ och DH.

Delmoment 2. Screening av mjölkparametrar och teknologiska egenskaper

Mjölksammansättning

Skillnader kan ses i koncentration av de olika mjölkkomponenterna mellan SR, DH och DJ, se tabell 1.

Tabell 1 Mjölksammansättning för SR, DH och DJ. Olika bokstäver i samma rad visar signifikant skillnad ($P < 0.05$).

	SR	DH	DJ
Laktationsvecka	27.0±0.3 ^a	25.6±0.3 ^b	26.6±0.3 ^{ab}
Mjölkavkastning, kg	14.0±0.2 ^a	14.7±0.2 ^b	10.2±0.2 ^c
Mjölkavkastning/dygn, kg	30.1±0.4 ^a	30.8±0.4 ^a	20.5±0.4 ^b
Celltal, log(x celler/ml)	1.51±0.02 ^a	1.82±0.02 ^b	1.88±0.02 ^b
Fett, %	4.12±0.04 ^a	3.98±0.04 ^a	5.99±0.04 ^b
Protein, %	3.65±0.02 ^a	3.43±0.02 ^b	4.31±0.02 ^c
Kasein, %	2.65±0.01 ^a	2.66±0.01 ^a	3.03±0.01 ^b
Laktos, %	4.69±0.01 ^a	4.79±0.01 ^b	4.63±0.01 ^c
Torrsubstans, %	13.33±0.05 ^a	13.04±0.05 ^b	16.02±0.05 ^c
Fria fettsyror	0.90±0.01 ^a	0.69±0.01 ^b	0.67±0.01 ^b
Urea, mmol/L	306.5±3.2 ^a	211.5±3.1 ^b	272.8±3.2 ^c
Citronsyra, mM	0.18±1.1·10 ⁻³ ^a	0.17±1.0·10 ⁻³ ^b	0.18±1.0·10 ⁻³ ^a
Vitamin E/ α -tokoferol μ g/g fett	21.42±0.28 ^a	20.26±0.28 ^b	22.85±0.28 ^c
pH (skummjolk)	6.65±0.003 ^a	6.69±0.003 ^b	6.67±0.003 ^c
Konduktivitet, mS/cm	5.52±0.02 ^a	5.82±0.02 ^b	5.43±0.02 ^c

SR och DH har lägre fett-, total protein- och kaseinhalt samt därmed lägre torrsubstanshalt än DJ, vilket kan ha betydelse för olika teknologiska egenskaper. Vidare har SR högre halt av både fria fettsyror och urea jämfört med DH och DJ.

De teknologiska egenskaperna hos mjölk från olika raser och individer påverkas delvis av total protein- och kaseinhalt, men för att få en djupare förståelse är analys av proteinprofil viktig och dess koppling till genetisk uppsättning. Olika genetiska varianter av de individuella proteinerna kan påverka mängden och därmed exempelvis koaguleringssegenskaper. De relativa mängderna av α -LA, β -LG, α_{S1} -, α_{S2} -, κ - och β -CN bestämdes för alla tre raser och redovisas i tabell 2 nedan.

Tabell 2 Proteinprofil för SR, DH och DJ. Olika bokstäver i samma kolumn visar signifikant skillnad ($P < 0.05$).

Ras	α -LA, w/w%	β -LG, w/w%	α_{S2} -CN, w/w%	α_{S1} -CN, w/w%	κ -CN, w/w%	β -CN, w/w%
SR	2.20±0.18 ^a	9.11±0.54 ^a	7.13±0.27 ^a	29.72±0.47 ^a	11.69±0.28 ^a	31.98±0.57 ^a
DH	2.62±0.18 ^b	10.57±0.54 ^b	6.80±0.27 ^b	29.68±0.47 ^a	10.27±0.28 ^b	34.20±0.57 ^b
DJ	2.32±0.17 ^a	9.29±0.51 ^a	7.88±0.26 ^c	31.48±0.45 ^b	11.75±0.27 ^a	33.08±0.54 ^c

DH har högst relativ koncentration α -LA, β -LG och β -CN men lägst relativ koncentration av α_{S2} -CN och κ -CN jämfört med SR och DJ, medan DJ har högst relativ koncentration av α_{S2} -CN och α_{S1} -CN. SR har lägst relativ koncentration av β -CN av de tre raserna.

Teknologiska egenskaper

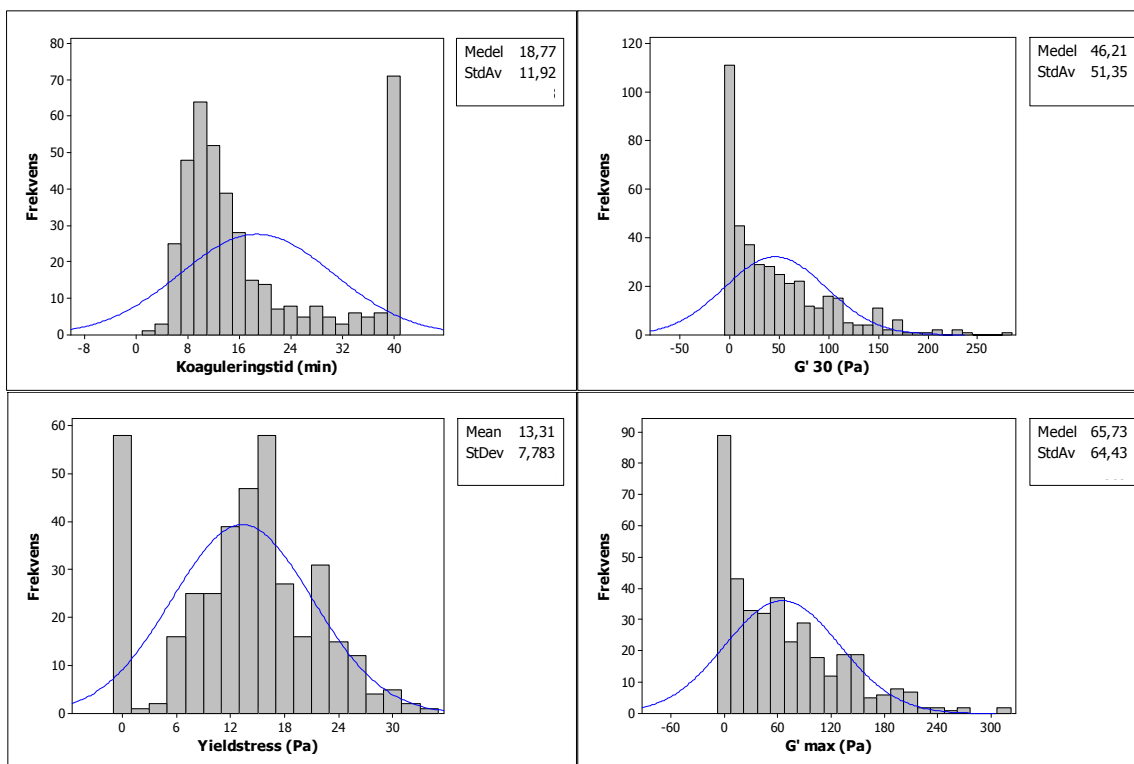
Löpekoaguleringsförmågan undersöktes i mjölk från alla tre raser med en snabbmetod (ReoRox reometer) som mäter hastigheten med vilken gelen byggs upp (CFR) och tiden det tar innan en gel börjar bildas (CT), se tabell 3.

Tabell 3 Koaguleringssegenskaper för SR, DH och DJ. Olika bokstäver i samma kolumn visar signifikant skillnad ($P < 0.05$).

	CFR, Pa/min	CT, min
SR	7.22±0.29 ^a	29.27±0.50 ^a
DH	8.62±0.28 ^b	18.37±0.48 ^b
DJ	21.31±0.28 ^c	15.98±0.49 ^c

Det är en tydlig skillnad på koaguleringsförmåga mellan de tre raserna där SR har längre koaguleringstid och bygger upp gelen långsammare än de två danska raserna. Detta kan bero på skillnader i mjölksammansättning och genetisk uppsättning.

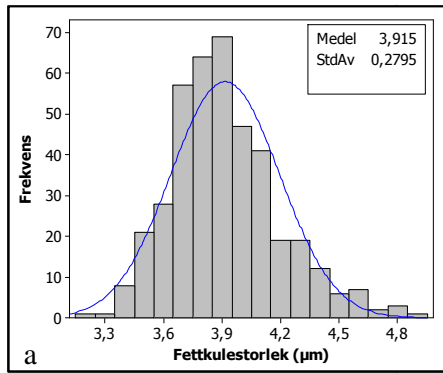
Koaguleringsförmågan i mjölk från SR-kor uppmättes även i Sverige med en känsligare reologisk metod, Stresstech reometer. I figur 1 visas histogram över koaguleringstid, gelstyrka efter 30 minuter (G'_{30}), maximalt uppnådda gelstyrka ($G'_{\max}$) och motstånd mot gelnedbrytning (yield stress).



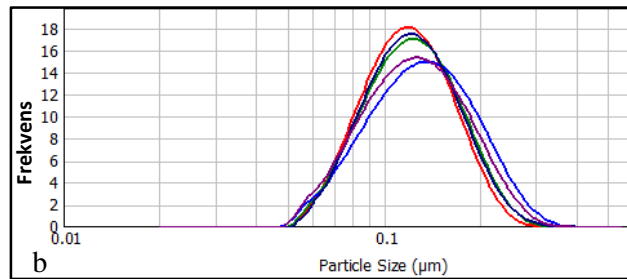
Figur 1 Histogram över koaguleringsförmågan hos SR-mjölk. G'_{30} = Gelstyrka efter 30 min, $G'_{\max}$ = maximalt uppnådda gelstyrka och Yield stress = motstånd mot nedbrytning.

I figur 1 kan man se att ca 20% av mjölkproverna (SR) inte har koagulerat efter 40 minuter ($G'=0$ och $YS=0$). Histogrammen visar att mjölk från individuella kor har stor variation med avseende på koaguleringssegenskaper. I tabell 3 visas att koagulerbarheten i SR-mjölk är sämre än för DH och DJ vilket kan ha påverkats av den höga frekvens icke-koagulerande prover. Detta kan ha stor betydelse för ostproduktionen eftersom man där eftersträvar en jämn ystmjölkskvalitet och en optimal koagelbildning. Även om endast 20% av individerna ger icke-koagulerande mjölk så har studier har visat att inblandning av icke-koagulerande mjölk kan ha en inverkan på koagulerbarheten.

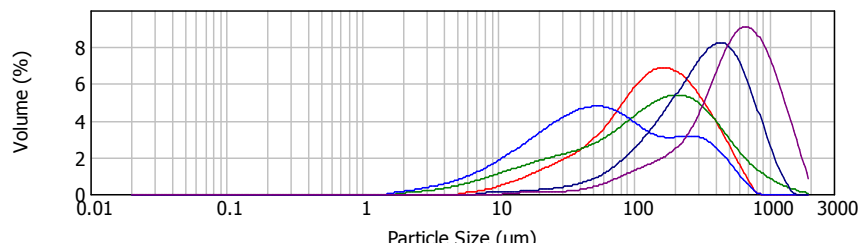
Dynamisk ljusspridning användes för att bestämma den volymviktade, $d(4,3)$, fettkule- och kaseinmicellstorleken i de insamlade SR-mjölkproverna. Både storleken av fettkulor och kaseinmiceller varierade mellan de individuella mjölkproverna och resultatet visas i figur 2a och 2b nedan. Medelvärde på fettkulestorleken var $3.92 \pm 0.28 \mu\text{m}$ vilket är jämförbart med andra studier på SR. Även koaguleringsmekanismen undersöktes med hjälp av dynamisk ljusspridning. Figur 3 visar exempel på hur kaseinaggregat byggs upp i ett individuellt mjölkprov med tillsatt kymosin.



Figur 2a Histogram över fettkulestorleken i mjölk från SR. Frekvensen beskriver hur många mjölkprover som höll sig inom ett intervall.



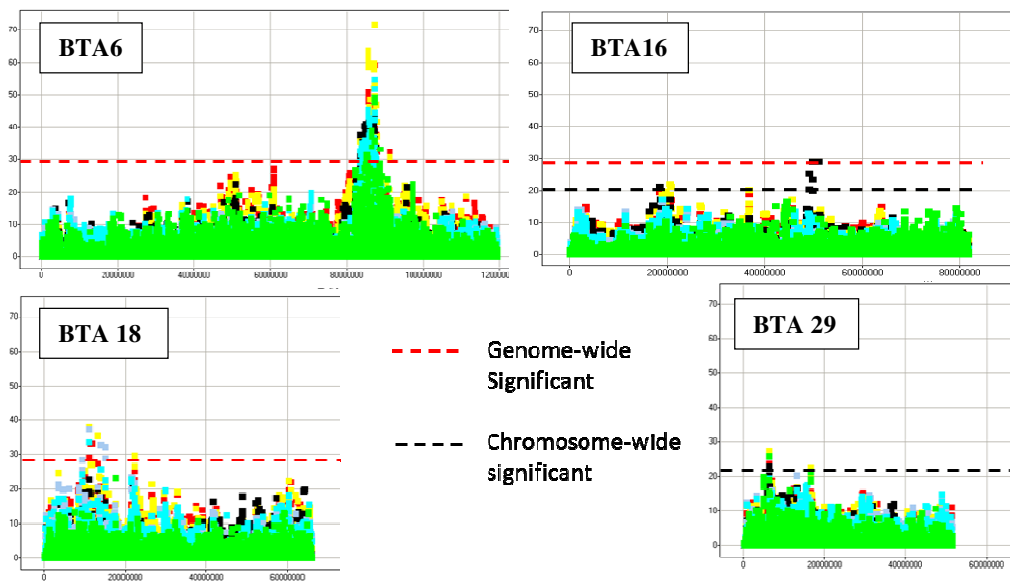
Figur 2b Exempel på storleksfördelning av kaseinmiceller i 5 individuella mjölkprov från SR.



Figur 3 Exempel på storleksfördelning på aggregat av kaseinmiceller. Kurvorna visar olika tidpunkter efter kymosintillsats.

Delmoment 3. Screening av den genetiska uppsättningen samt nya markörgener

För att hitta nya markörgener användes ett högdensitetschip med 777 000 DNA-markörer för att genotypa SR-korna varefter GWAS utfördes där SNP kopplades samman med mjölkens löpekoaguleringsförmåga i SR-proverna. Associationsstudien resulterade i 33 unika QTL-regioner på 21 olika kromosomer vilka påverkade en eller flera av de uppmätta koaguleringsparametrarna. I figur 4 visas exempel på QTL-regioner på 4 olika kromosomer.



Figur 4 GWAS analys av fyra olika kromosomer. Den röda streckade linjen visar på genomövergripande signifikans och den svarta streckade linjen kromosomövergripande signifikans. BTA=Bos Taurus Autosom

Varje topp visar en SNP som kan ha inverkan på mjölkens löpekoaguleringsförmåga och som kan variera mellan individuella SR-kor. När topparna är högre än de streckade linjerna, se figur 4, visar det på kromosom- eller genomövergripande signifikans. En gruppering av SNPs som är signifikanta bildar ett QTL. De olivfärgade punkterna representerar de olika uppmätta koaguleringsparametrarna. Ett antal gener som hittats inom eller i närheten av QTL har identifierats. Detta inkluderar generna GALNT1 och GALNT3 som kan påverka glykosylering av κ -CN och CSNK1G3 som kan påverka fosforylering av kasein. Ett stort QTL var också närvarande på BTA 6 där kaseingenerna finns. En detaljbild över kaseinklustret på kromosom 6, figur 5, visar att kasein har stor inverkan på mjölkens koaguleringsegenskaper.

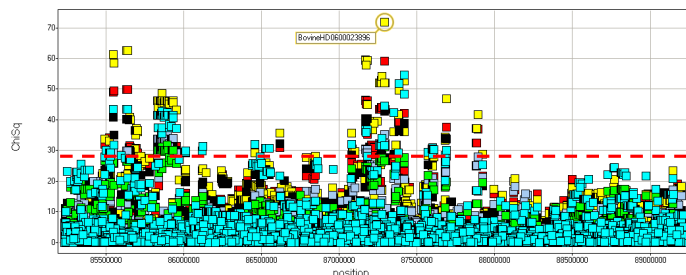


Figure 5 Detaljbild över kaseinklustret på kromosom 6. Den röda linjen indikerar genomövergripande signifikans.

Det är sedan tidigare känt att det finns flera olika genetiska varianter av kasein och vassleprotein. Genotypfrekvenser för κ -, β - och α_{S1} -CN i SR, DH och DJ presenteras i tabell 4 och 5 nedan.

Tabell 4 Genotypfrekvenser av κ -kasein och α_{S1} -kasein hos SR, DH och DJ

Kasein	Genetisk variant	SR	DH	DJ
κ -CN	AA	0.37	0.48	0.04
	AB	0.20	0.35	0.34
	AE	0.30	0.09	0.00
	BB	0.02	0.05	0.63
	BE	0.08	0.03	0.00
	EE	0.03	0.01	0.00
α_{S1} -CN	BB	0.99	0.99	0.32
	BC	0.01	0.01	0.51
	CC	0.00	0.00	0.18

Tabell 5 Genotypfrekvenser av β -kasein hos de tre hos SR, DH och DJ

Genetisk variant	SR	DH	DJ
A1A1	0.22	0.06	0.01
A1A2	0.53	0.33	0.10
A1A3	0.00	0.01	0.00
A2A2	0.25	0.38	0.42
A2A3	0.00	0.01	0.00
A2I	0.00	0.08	0.08
BA1	0.00	0.02	0.04
BA2	0.00	0.06	0.24
BB	0.00	0.00	0.06
IA1	0.00	0.04	0.01
IB	0.00	0.01	0.04
II	0.00	0.01	<0.01

Man kan se att genotypfrekvenserna varierar mycket mellan de tre raserna. Det är mycket vanligare med E-allelen av κ -CN i SR än någon av de andra två raserna, medan B-allelen är vanligast i DJ. Detta stämmer överens med tidigare koaguleringsresultat eftersom B-allelen är kopplad till bättre löpekoaguleringsförmåga och E-allelen till sämre förmåga. I både SR och DH har de flesta korna α_{S1} -CN BB genotypen, medan BC och CC genotyperna är vanligare i DJ. Det finns många olika genetiska varianter av β -CN. I-varianten har inte tidigare rapporterats i DH och DJ men upptäcktes i och med detta svensk-danska samarbete. I SR och DH är A1 och A2 allelerna vanligast medan B och A2 allelerna är vanligast i DJ.

General linear model användes för att undersöka effekten av olika genetiska varianter på koaguleringsegenskaperna hos SR-kor. I modellen inkluderades genetiska varianter av κ -CN och β -CN, gård/insamlingsvecka, laktationsnummer och laktationsvecka. I tabell 5 och 6 redovisas inverkan av genetiska varianter på de uppmätta koaguleringsparametrarna.

Tabell 6 Inverkan av genotyp på koaguleringssegenskaper i mjölk från SR. Olika bokstäver i samma kolumn visar signifikant skillnad ($P < 0.05$).

	Genotyp	Koaguleringstid, min [*]	G' ₃₀ , Pa ^{**}	G' _{max} , Pa ^{***}	Yield stress, Pa ^{****}
κ-CN	AA	15.7±1.84 ^{ab}	56.4±7.34 ^a	77.7±9.18 ^{ab}	14.8±1.18 ^{abc}
	AB	12.3±2.05 ^b	78.1±8.18 ^b	101.4±10.34 ^a	17.5±1.32 ^a
	AE	18.0±1.91 ^a	42.7±7.62 ^{ac}	60.7±9.52 ^b	12.8±1.22 ^{bc}
	BB	9.6±4.15 ^{ab}	85.6±16.53 ^{abc}	116.9±20.46 ^{ab}	19.8±2.61 ^{ab}
	BE	13.5±2.66 ^{ab}	63.4±10.58 ^{abc}	87.4±13.11 ^{ab}	16.7±1.68 ^{ab}
	EE	24.3±4.09 ^a	0.68±16.29 ^{bc}	6.0±20.21 ^c	8.2±2.59 ^c
β-CN	A1A1	8.9±2.15 ^a	82.8±8.56 ^a	111.0±10.63 ^a	19.4±1.36 ^a
	A1A2	15.8±1.95 ^b	51.8±7.75 ^b	72.0±9.64 ^b	15.0±1.23 ^b
	A2A2	22.0±2.24 ^c	28.2±8.93 ^c	42.1±11.22 ^c	10.5±1.44 ^c

Förklaringsgrad för modell: ^{*}18.2%, ^{**}29.3%, ^{***}30.1%, ^{****}22.8%

Tabell 6 visar att de genetiska varianterna av κ-CN har en inverkan på koaguleringssegenskaperna. En genotyp innehållande E-allelen tycks öka koaguleringstiden och minska gelstyrkan, medan en kombination med B-allelen har motsatt effekt jämfört en genotyp homozygot för A eller B. κ-CN EE ger, i många fall signifikant, sämst koaguleringssegenskaper. κ-CN EE är dock ovanlig i provpopulationen. Genotypen κ-CN AB är ganska vanlig i populationen, 20% (tabell 4), och har signifikant kortare koaguleringstid och högre gelstyrka än många av de andra varianterna. Vidare tycks κ-CN BB ge de bästa koaguleringssegenskaperna, dock inte signifikant ($P < 0.05$). Eftersom EE och BB genotyperna är ovanliga i provpopulationen är möjligt att rikta aveln mot högre frekvens BB och lägre frekvens EE. Även de genetiska varianterna av β-CN verkar påverka koaguleringssegenskaperna och skiljer sig signifikant för alla parametrar. β-CN A1A1 ger de bästa koaguleringssegenskaperna, medan A2A2 ger sämst.

Samma modell användes även för att undersöka om det fanns någon effekt av de genetiska varianterna på total protein- och kaseinhalt men ingen signifikant effekt kunde observeras. Detta kan bero på att skillnader mellan genotyper kan bero på proteinprofilen. Genom att koppla samman proteinprofilresultatet från SR, DH och DJ (tabell 2) med de genetiska varianterna kunde påverkan på den relativa koncentrationen av de olika individuella proteinerna undersökas. I modellen inkluderades genotyper, ras, laktationsnummer, laktationsvecka, mjölkavkastning/dag och celltal. Effekten av κ-CN och α_{S1}-CN genotyp på den relativa mängden av de individuella proteinerna presenteras i tabell 7. Endast de proteiner vars relativa mängd påverkades signifikant ($P < 0.05$) av de olika varianterna presenteras.

Tabell 7 Inverkan av κ-CN och α_{S1}-CN genotyper på relativ mängd individuellt protein i mjölk från SR, DH och DJ. Olika bokstäver i samma kolumn visar signifikant skillnad ($P < 0.05$).

κ-CN genotyp	α _{S2} -CN, w/w% [*]	α _{S1} -CN, w/w% ^{**}	κ-CN, w/w% ^{***}	α _{S1} -CN genotyp	α _{S1} -CN, w/w% ^{**}
AA	7.62±0.28 ^a	30.52±0.48 ^a	11.21±0.29 ^{ab}	BB	29.42±0.37 ^a
AB	7.15±0.26 ^b	29.95±0.44 ^b	11.38±0.27 ^{ab}	BC	30.06±0.46 ^a
AE	7.59±0.28 ^{ac}	30.65±0.48 ^{ab}	10.96±0.29 ^a	CC	31.40±0.64 ^b
BB	6.91±0.22 ^b	29.94±0.38 ^{ab}	11.70±0.23 ^b		
BE	6.98±0.31 ^{bc}	29.83±0.54 ^{ab}	11.16±0.32 ^{ab}		
EE	7.37±0.45 ^{abc}	30.90±0.78 ^{ab}	11.01±0.47 ^{ab}		

Förklaringsgrad för modell: ^{*}16.0%, ^{**}28.4%, ^{***}31.9%

Mjölk från kor med κ-CN AE har signifikant lägre relativ koncentration κ-CN än kor med κ-CN BB. B-allelen tycks öka den relativa mängden κ-CN, medan E-allelen minskar den jämfört en genotyp homozygot för A eller B. Detta stämmer överens med trenden för koaguleringsförmåga i tabell 7. De genetiska varianterna av κ-CN verkar också ha en effekt på den relativa mängden α_{S1}-CN och framförallt α_{S2}-CN. Genotyper innehållandes A- och E-allelerna verkar ge höga relativa koncentrationer α_{S2}-CN, medan genotyper innehållandes B-allelen ger låga relativa koncentrationer. De olika genotyperna av α_{S1}-CN har en signifikant

effekt på den relativa koncentrationen av α_{S1} -CN. Mängden minskar med genotyp CC>BC>BB. Effekten av β -CN genotyper på den relativa mängden av de individuella proteinerna presenteras i tabell 8. Endast de proteiner vars relativa mängd påverkades signifikant av de olika varianterna av presenteras i tabellen.

Tabell 8 Inverkan av β -CN genotyp på relativ mängd individuellt protein i mjölk från SR, DH och DJ. Olika bokstäver i samma kolumn visar signifikant skillnad ($P < 0.05$).

β -CN genotyp	α_{S2} -CN, w/w% *	α_{S1} -CN, w/w% **	κ -CN, w/w% ***	β -CN, w/w% ****
A1A1	6.64±0.23 ^a	30.32±0.39 ^{ab}	11.94±0.24 ^a	33.09±0.47 ^{ab}
A1A2	6.92±0.21 ^{ab}	30.42±0.37 ^a	11.46±0.22 ^{acd}	32.92±0.44 ^{ab}
A2A2	7.13±0.20 ^{bdf}	31.07±0.35 ^b	11.03±0.21 ^b	32.29±0.42 ^a
A1A3	6.60±0.83 ^{abcdef}	30.91±1.43 ^{ab}	10.78±0.86 ^{abcd}	32.50±1.73 ^{ab}
A2A3	6.47±0.83 ^{abcdef}	30.89±1.43 ^{ab}	10.92±0.86 ^{abcd}	32.14±1.73 ^{ab}
A2I	8.17±0.28 ^{cf}	30.02±0.48 ^{ab}	10.95±0.29 ^c	32.87±0.58 ^{ab}
BA1	6.86±0.39 ^{abdf}	30.51±0.67 ^{ab}	11.16±0.41 ^{abcd}	33.71±0.82 ^{ab}
BA2	6.84±0.27 ^{abd}	30.79±0.46 ^{ab}	11.09±0.28 ^d	33.56±0.56 ^b
BB	7.31±0.48 ^{abcdef}	29.08±0.83 ^{ab}	10.95±0.50 ^{abcd}	32.91±1.01 ^{ab}
IA1	7.92±0.35 ^f	30.31±0.60 ^{ab}	11.71±0.36 ^{abcd}	33.59±0.73 ^{ab}
IB	7.25±0.50 ^{abcdef}	30.63±0.87 ^{ab}	11.23±0.52 ^{abcd}	34.42±1.05 ^{ab}
II	9.15±0.64 ^{ef}	28.60±1.11 ^{ab}	11.64±0.67 ^{abcd}	33.05±1.34 ^{ab}

Förklaringsgrad för modell: * 16.0%, ** 28.4%, *** 31.9%, **** 25.5%

β -CN genotyperna verkar inte ha en stor effekt på den relativa koncentrationen av β -CN. Däremot är den relativa koncentrationen κ -CN högre i genotyp A1A1 jämfört med A2A2 vilket kan förklara skillnaderna i koaguleringssegenskaper i tabell 6.

Delmoment 4. Analys av sammansättning och teknologiska egenskaper i extrema mjölkprov

Effekten av extrema halter av de individuella proteinerna i mjölk från SR undersöktes genom att gruppera proverna efter låg, mellan och hög halt av respektive individuellt protein (tabell 9). I modellen inkluderades grupperingarna av varje individuellt protein, gård/insamlingsvecka, laktationsnummer och laktationsvecka. Endast de grupper som påverkar koaguleringssegenskaperna signifikant presenteras i tabellen.

Tabell 9 Påverkan av extrema relativa koncentrationer av β -LG och κ -CN på koaguleringsstid (KT), gelstyrka efter 30 min (G'_{30}) och motstånd mot gelnedbrytning (YS).

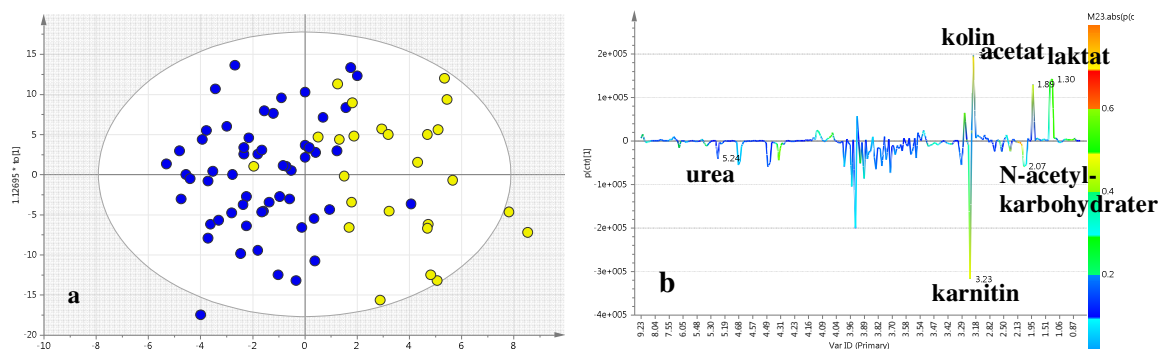
	β -LG, w/w, %	KT, min *	G'_{30} , Pa **	YS, Pa ***	κ -CN, w/w, %	KT, min	G'_{30} , Pa	YS, Pa
Låg	6.7±1.1 ^a	17.6±2.2 ^a	58.0±9.4	13.9±1.4 ^a	10.3±0.9 ^a	16.2±2.1 ^a	47.8±9.2 ^a	13.5±1.4 ^a
Mellan	9.0±0.6 ^b	13.0±2.0 ^b	64.2±8.8	17.4±1.3 ^b	11.7±0.4 ^b	14.6±2.0 ^a	64.0±8.5 ^b	15.9±1.3 ^a
Hög	11.0±0.8 ^c	10.2±2.2 ^b	68.2±9.3	17.1±1.4 ^{ab}	12.9±0.6 ^c	10.0±2.1 ^b	78.6±9.1 ^b	19.3±1.4 ^b

Förklaringsgrad för modell: * 12.0%, ** 22.2%, *** 19.2%,

Resultaten för β -LG och κ -CN och indikerar att en hög relativ koncentration β -LG ger kortare koaguleringsstid än en låg. En hög relativ koncentration κ -CN ger kortare koaguleringsstid, fastare gel (G') som är mer resistent mot nedbrytning (YS) än vid låg koncentration.

NMR-analyser utfördes på mjölk från SR för att bestämma metabolitprofilen. Prover med extrema koaguleringssegenskaper valdes ut för vidare analys.

I figur 6a nedan visas en tydlig gruppering av prover med bra koaguleringssegenskaper och prover som inte koagulerar med avseende på metabolitprofilen. Vilka metaboliter som påverkar koaguleringssegenskaperna visas i figur 6b. Kolin, laktat och acetat finns i högre halt i prover med bra koaguleringssegenskaper, medan N-acetylkarbohydrater, urea och karnitin finns i lägre halter.



Figur 6 (a) Gruppering av icke-koagulerande (blå) och bra koagulerande prover (gula) med avseende på metaboliter **(b)** Metaboliter som påverkas av/påverkar koaguleringssegenskaper i SR.

Diskussion

Resultaten från projektet visar på tydliga skillnader i mjölksammansättning och teknologiska egenskaper mellan individuella kor från samma ras, och även mellan olika raser, som till stor del kan förklaras av den genetiska variationen. Både proteinprofilen och koaguleringsegenskaperna påverkas av genetiska proteinvarianter och proteinvarianterna varierar både inom och mellan raser. Detta innebär att den mest fördelaktiga genotypen kan användas för direkt urval av avelstjurar och kvigor/kor för att styra mjölkens sammansättning och näringsinnehåll. Med kopplingen mellan mjölksammansättning och koaguleringsegenskaper kan man sedan indirekt styra aveln mot bättre processbarhet av mjölken. Genom att identifiera nya genmarkörer för teknologiska egenskaper kan man direkt genom genomisk selektion styra avelsarbetet. I detta projekt har det därför för första gången utförts en GWAS med avseende på koaguleringsförmåga. De nya QTL som har hittats innehåller bland annat gener som kan påverka glykosylering och fosforylering av kaseiner, vilket kan förklara kopplingen till mjölkens koaguleringsförmåga. En stor del av variationen i koaguleringsförmåga kan förklaras med de 33 unika QTL-regionerna, vilket visar att ett selektivt avelsarbete på koagulerings- och kvalitetsegenskaper är möjligt.

En tredjedel av den svenska invägda mjölken går till osttillverkning där processtid och ostutbyte är viktiga parameterar. Ett problem för mejeriindustrin är dåligt koagulerande mjölk och särskilt om andelen skulle öka. Den nya information som kommit fram i projektet visar på vilka genetiska markörer och genetiska proteinvarianter som aveln bör styra mot för att undvika detta problem. En framtida möjlighet att kunna förklara koaguleringsförloppet karaktär är att sätta samman mjölkens kalciuminnehåll, både fritt i serumfasen och bundet i kaseinmicellerna med kornas genetiska uppsättning. Med specifika genetiska markörer för mjölkens näringsinnehåll och teknologiska egenskaper kan avelsmaterial väljas ut, vilket möjliggör produktion av mjölktyper med ett förväntat mervärde som gynnar lantbrukarnas lönsamhet och mejeriföretagens produktion.

Publikationer

- *Publikation 1:* Expression of individual caseins and whey proteins in milk from dairy cows with different genetic protein variants and of different breeds. *Under bearbetning.*
- *Publikation 2:* Impact of genetic variants of milk proteins on enzymatic coagulation properties of milk from individual cows from Swedish Red. *Under bearbetning.*
- *Publikation 3:* Genome wide association scans for bovine chromosomal regions affecting rheological parameters in rennet-induced skim milk gels. *Under bearbetning.*
- *Publikation 4:* Impact of genetic polymorphism on the casein micelle size distribution of milk from individual cows from different dairy breeds. *Under bearbetning.*

- *Publikation 5:* Impact of genetic polymorphism on the fat globule size distribution of milk from individual cows from Swedish Red. *Under bearbetning.*
- *Publikation 6:* Genomic selection in relation to bovine milk composition and processability in Swedish Red cows. *Under bearbetning.*
- *Publikation 7:* Breed effects on low-molecular-weight compounds in bovine milk and impact on technological quality (medförfattare), *Under bearbetning*
- *Publikation 8:* The influence of Feed and Herd on Fatty Acid Composition in Three Dairy Breeds (medförfattare). Accepterad för publication i Journal of Dairy Science.

Övrig resultatförmedling till näringen

En delmängd av resultaten har presenterats/kommer att presenteras som poster eller muntlig presentation vid följande konferenser/workshops:

- Muntlig presentation, "Workshop on the European network on milk genomics", Wageningen, Nederländerna, maj 2011
- Muntlig presentation på "Dairy Structures – Health and Functionality", NordForsk Network, Kaunas, Litauen, aug 2011
- Muntlig presentation, "Djurhälso- & Utfodringskonferensen 2012", Uppsala, aug 2012
- Posterpresentation, "9th International Symposium on Milk Genomics and Human Health", Wageningen, Nederländerna, okt 2012
- Muntlig presentation, "Workshop on the European network on milk genomics", Wageningen, Nederländerna, okt 2012
- Posterpresentation på "IDF World Dairy Summit 2012", Kapstaden, Sydafrika, nov 2012

Projektet har informerats om i:

- Forskning Special, nr14/2009, nr15/2010, nr10/2012
- Kärnfullt, nr 12/2011
- Livs- och läkemedelsportalens nyhetsbrev, Lunds Universitet, utgivet 2012-06
- Medlemssida för LRF Västra Sverige i Land Lantbruk, *under bearbetning*, 2012

Projektet och resultaten har även presenterats/omnämnts vid följande tillfällen:

- Projektmöten inom det svensk-danska milk genomics initiativet, Århus Universitet Foulum, SLU och Lunds Universitet, 6 möten 2010-2012
- Mejeriteknologimöte med mejeriföretag (Arla Foods, Skånemejerier, Norrmejerier, Milko, TetraPak och Svensk Mjolk), Lunds Universitet, 5 möten 2010-2012
- Seminarium vid avdelningen för Livsmedelsteknik, Lunds Universitet, maj 2010
- "Functional milk compounds – With focus on milk proteins", NordForsk doktorandkurs, Köpenhamns Universitet, sept 2010
- "Food proteins: Significance, Reactions and Modifications", doktorandkurs, Köpenhamns Universitet, okt 2011
- "Food Structure and Rheology", VLAG doktorandkurs, Wageningen, Nederländerna, maj 2012
- Uppdragsutbildningen Mejeriprocesser, Lunds Universitet, 3 gånger 2011-2012
- Bondeblogg Arla Foods, 2011,
<http://arlasbondeblogg.wordpress.com/2011/03/21/forskare-pa-besok/>

Projektet finns beskrivet på följande hemsidor:

- Hemsida för det svensk-danska milk genomics initiativet, www.milkgenomics.dk
- Avdelningen för Livsmedelsteknik, Lunds Univeristet
http://www.food.lth.se/english/contacts/personnel/personal_home_pages/frida_gustavsson_phd_student/