

# FÖRÄDLING AV VÅRKORN MED SÄNKT FYTATINNEHÅLL RESPEKTIVE FÖRÄNDRAD STÄRKELSESAMMANSÄTTNING.

## BAKGRUND

Korn, som är en av våra äldsta kulturväxter, utgör tillsammans med höstvetete de mest odlade sädesslagen i Sverige. Huvuddelen av det korn som produceras används som djurfoder men även betydande mängder malkorn odlas. Historiskt sett har korn varit ett viktigt baslivsmedel, men i dag utnyttjas endast en liten andel till humankonsumtion i västvärlden. Kornet har dock många egenskaper som gör att det lämpar sig bra som livsmedelsråvara. Under senare år har kornets betydelse på en internationell marknad minskat till förmån för exempelvis vete och de stora växtslagen ris och majs. En stor genetisk variation gör att det finns goda möjligheter att anpassa kornet till många olika applikationer, och att med hjälp av växtförädling utveckla nya korntyper kan bidra till att öka grödans konkurrenskraft både ur ett produktionsperspektiv, men också som en intressant modellgröda. Inom Lantmännen har vi arbetat med förädling av specialkvaliteter hos korn sedan nittioalet och detta projekt är en fortsättning på tidigare arbeten som har finansierats av Stiftelsen Lantbruksforskning. Syftet har varit att kombinera specifika kvalitetsegenskaper med bra agronomiska egenskaper. Flera olika typer av korn har ingått i arbetet; korn med sänkt fytatinnehåll, olika stärkelsesammansättning, hög  $\beta$ -glukanhalt samt korn med naken kärna.

## Lågfytatkorn

Fytat är den vanligaste formen som fosfor lagras i hos spannmålskärnor och andra frön och utgör 65-75 % av kornkärnans totala fosforinnehåll. Fytat består av svårösliga komplex mellan fytinsyra (*myo*-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakisfosfat) och mineraler såsom kalcium, magnesium, järn och zink. Den största delen, ca 80 %, finns i aleuronlagret (Raboy *et al.*, 2000). Grisar och andra enkelmagade djur saknar enzymet fytas för en effektiv nedbrytning av fytat och den fosfor som är bunden i fytatform i fodret blir därför inte tillgänglig för djuren, utan går till stor del förlorad via gödseln. Djurens fosforbehov kan tillgodoses genom tillsats av oorganisk fosfor, men eftersom fosfor starkt bidrar till övergödning av sjöar och vattendrag och dessutom utgör en ändlig naturresurs, är det önskvärt att minska användningen av denna syntetiskt framställda fodertillsats ur såväl miljömässig som ekonomisk synvinkel. Den fosfor som finns naturligt hos spannmål är i sig ofta tillräcklig för att täcka djurens behov och kan göras tillgänglig genom att fytas tillsätts till fodret. Hos korn finns ett antal mutationer som i homozygot form ger ett minskat fytinsyrainnehåll (*low phytic acid*), bland andra *lpa1-1*, *lpa2-1* och *lpa3-1*.

## Korn med förändrad stärkelsesammansättning och förhöjt $\beta$ -glukaninnehåll

Kornkärnan består till ca 80 % av kolhydrater, med stärkelse som den viktigaste beståndsdel, upp till 65 % av kärnan. Stärkelse är uppbyggt av D-glukosmolekyler som är sammanlänkade med  $\alpha$ -1,4-bindningar till kedjor. Dessa bildar två huvudtyper av molekyler; Amylos, som kan beskrivas som långa kedjor och amylopektin, som är en stor och starkt förgrenad molekyl. Hos korn är andelen amylos vanligtvis 25-30 % och resterande 70-75 % utgörs av amylopektin. Förhållandet mellan amylos och amylopektin påverkar stärkelsens fysikaliska egenskaper och därmed hur den beter sig i såväl tillverkningsprocesser som i slutprodukter, men även dess fysiologiska effekter i livsmedel och djurfoder.

## Waxykorn

Korn som endast har en låg halt, eller saknar amylos i stärkelsen brukar kallas waxykorn. Inom Lantmännen växtförädling förekommer båda dessa typer av waxykorn och för att skilja dem åt kommer de härnäst att benämnas waxy lågamylos respektive waxy nollamylos. En

intressant avsättningsmöjlighet för korn med förändrad stärkelsesammansättning är waxykorn som råvara för stärkelseproduktion. En stor andel av den stärkelse som används inom livsmedelsindustrin utgörs av waxy majsstärkelse. Lantmännen och Lyckeby Culinar har genomfört studier som visar att waxy kornstärkelse har betydligt högre frys/töstabilitet än waxy majsstärkelse och därmed kvalitativa fördelar genom bättre lagringsduglighet. Stärkelsens sammansättning påverkar även förklistringsegenskaper och vattenupptag (Ståhl *et al.* 1996) och den genetiska variation som finns hos korn skapar goda förutsättningar att ta fram nya sorter med ”skräddarsydd” stärkelsekvalitet som svarar mot industrins önskemål. Därigenom skapas förutsättningar att konkurrera med de stärkelsekvantiteter som i dag importeras, men det kan även skapa exportmöjligheter av svenskodlat korn.

### Högamyloskorn

Korn med förhöjd halt amylos i stärkelsen kallas högamyloskorn. Stärkelsen kännetecknas bland annat av god kokstabilitet. Ett högre amylosinnehåll hos stärkelse är ofta kopplat till lågt glykemiskt index, GI, det vill säga en långsammare spjälkning och absorption i mag-tarmkanalen, med en åtföljande dämpning av blodsocker- och insulinsvar (Granfeldt *et al.* 1994). En hög andel amylos gynnar dessutom bildning av resistent stärkelse (Björk *et al.* 1990) som anses ha en gynnsam påverkan på tarmens hälsa. Stärkelsens sammansättning har även betydelse för dess egenskaper som djurfoder. Bland annat begränsas mängden spannmål i foderstaten till idisslare av stärkelsen, då en alltför hög andel lättsmälta kolhydrater kan störa pH-balansen i våmmen och ge foderbetingade hälsostörningar hos exempelvis högproducerande mjölkkor. Genom att använda fodermedel med stärkelse som bryts ner långsammare kan risken för en sur våmmiljö minskas.

De två mest kända huvudgenerna som påverkar amyloshalten hos korn är *amo-1*, som ger hög amyloshalt och *wax*, som ger låg. *amo-1* identifierades och isolerades i ”High Amylose Glacier” (Glacier AC38) av Merritt 1967. Waxy-egenskapen hos modernt korn upptäcktes i form av en spontan mutation i sorten Oderbrucker, som senare gav upphov till sorten Waxy Oderbrucker.

### $\beta$ -glukaner

Lösliga  $\beta$ -glukaner från korn och havre är kända för att ha en reducerande inverkan på kolesterolhalten i blodet. Ett högt innehåll av lösliga kostfiber ger även ett långsammare upptag av stärkelsen från tarmen till blodet. Både högamylos- och waxykorn har ett förhöjt innehåll av  $\beta$ -glukaner och det är inte ovanligt med halter på 6-7 %, jämfört med 3-5 % hos vanligt korn (Ullrich *et al.* 1986, Ståhl *et al.* 1996, Oscarsson *et al.* 1997). Genom att korsa waxykorn med högamyloskorn har kornlinjer med kraftigt förhöjt  $\beta$ -glukaninnehåll och välmatade kärnor framställts (Swanston *et al.* 1997, Fujita *et al.* 1999).

## **MATERIAL OCH METODER**

Sedan tidigare har fyra inducerade *lpa*-mutanter i sorten Harrington erhållits från USDA-ARS; M.422, M.635, M.955 samt M.1070. Dessa har återkorsats till odlingsvärda sorter och förädlingslinjer av skandinavisk typ. Återkorsningsföräldrarna har haft hög avkastning och goda agronomiska egenskaper, och speciell vikt har lagts på goda stråegenskaper. Linjer med ursprung i mutanten M.635 har uppvisat bäst resultat och därför har det fortsatta förädlingsarbetet främst skett med material som har denna genkälla.

Lantmännens förädling av korn med förändrad stärkelsesammansättning har resulterat i ett omfattande förädlingsmaterial med en variation i stärkelsesammansättning som sträcker sig från i stort sett amylosfria linjer till linjer med amyloshalter runt 40 %. Tabell 1 visar de

genkällor som använts vid förädling av waxykorn. Arbetet har avancerat snabbast med waxy lågamylos-materialet och sedan tidigare har sorterna Cindy, Cinnober (naken kärna) och Magdalena med denna stärkelse typ registrerats på den svenska sortlistan.

| Genkälla             | Erhållen från             | Ursprung           | Stärkelse typ   |
|----------------------|---------------------------|--------------------|-----------------|
| Waxy Compana         | Montana State University  | Spontan mutation   | Waxy lågamylos  |
| Waxy Hulless Compana | ”                         | ”                  | ”               |
| BZ 489-30            | ”                         | ”                  | ”               |
| Waxy Titan           | Norges Landbrukshøgskole  | ”                  | ”               |
| Waxy Oderbrucker     | ”                         | ”                  | ”               |
| Azhul                | Arizona State University  | Inducerad mutation | Waxy nollamylos |
| Yon-M-kei 286        | Tochigi Agr. Exp. Station | ”                  | ”               |

Tabell 1. Genkällor för waxy stärkelse hos SW (Sammanställning efter Persson m.fl.)

### Förädlingsgång och fältförsök

Förädlingen av sorter med nya kvalitetsegenskaper inleds med upprepade återkorsningar för att anpassa materialet till nordiska förhållanden. Som återkorsningsföräldrar har kommersiella sorter och linjer ur Lantmännens förädlingsprogram använts. För att arbeta med en bred genbakgrund och kontinuerligt välja de föräldrar som har de bästa egenskaperna för de karaktärer som eftersträvas, har flera återkorsningsföräldrar använts. Mellan varje återkorsning har urval gjorts med avseende på önskad kvalitetsegenskap. Efter avslutade återkorsningar följer materialet samma schema som vid Lantmännens förädling av malt- och foderkorn. Det första urvalet görs i generation F2, där selekterade plantor skördas i bulk och sås som F3-populationer på södra halvklotet. I F3 görs inget urval utan nästa selektion sker i F4, där plantorna tröskas var för sig, varefter de sås och provas som linjer i generation F5. Materialet är som störst i generationerna F4 och F5, där hundratals plantor respektive linjer utvärderas. Därefter följer avkastningsförsök med en upprepning, följt av avkastningsförsök med flera upprepningar (randomiserade fullständiga lattice försök) på företagens försökslokaler i Svalöv (Skåne), Bjertorp (Västergötland), Kölbäck (Östergötland) och Haga (Uppland). I avkastningsförsöken bedöms linjernas odlings- och kärnegenskaper och prover tas ut för kemiska analyser. Som mätare har en sortblandning använts. Denna har bestått av fyra sorter som har bytts ut successivt. Avsikten med sortblandningen är att utjämna årsmånseffekter. I försöken har även godkända marknadssorter ingått. Resultaten har bearbetats statistiskt med Lattice Analys (ALS) eller Nearest Neighbours Analys (NNE) i databasen Agrobases, beroende på om det funnits block-miniblockvariation (ALS) eller trender i fältet (NNE). Parallellt med avkastningsförsöken har resistensegenskaperna undersökts i observationsparceller på utvalda platser med högt infektionsstryck av kornets vanligaste sjukdomar.

### Kemiska analyser samt NIR/NIT-spektroskopi

Kornplantor som varit homozygot waxy har selekterats med hjälp av jodfärgning av omogna pollenkorn (Eriksson 1962). Amylosinnehållet hos stärkelse från förädlingslinjer har bestämts kvantitativt genom amperometrisk titring med kaliumjodid (BeMiller 1964) och  $\beta$ -glukaninnehållet har analyserats enligt Analytica EBC Method 3.10.2. Analys av fri fosfor och fytinsyra har utförts med spektrofotometriska metoder (Wilcox *et al.* 2000 respektive Holt 1955). För analys av prover med hjälp av NIT-spektroskopi har analyser utförts med Infratec 1241 (Foss), med våglängdsområde 850 – 1050 nm. Bearbetning av spektroskopidata samt kalibreringsutveckling har utförts med Unscrambler® programvara (Camo Software AS).

## RESULTAT

### Lågfytatkorn

De första linjerna från korsningar med lågfytatmutanter provades i egna avkastningsförsök 2005. Under projektiden har ytterligare återkorsningar genomförts och ca 4000 linjer, varav ca 250 var fördubblade haploider, har odlats som småparceller där urval har gjorts. Endast linjer som uppvisat acceptabla agronomiska egenskaper och sjukdomsresistens har skördats och de linjer som även haft förhöjda halter fri fosfor har provats i avkastningsförsök (tabell 2). Några har avkastat lika bra, eller bättre än mätarna men dessa har visat sig ha normala nivåer av fri fosfor vid upprepade analys året efter. De bästa linjerna med bekräftat hög halt fri fosfor och/eller lågt fytinsyrainnehåll har haft ungefär tio procent lägre avkastning än sortblandningen. SW 07-19378 har avkastat som sortblandningen men har endast funnits med i ett avkastningsförsök. Linjen har haft hög halt fri fosfor både 2007 och 2008. Fytinsyrainnehållet har reducerats med ca 75 % i de linjer som har högt innehåll av fri fosfor, jämfört med vanligt korn, vilket stämmer väl överens med amerikanska studier (Raboy och Cook, 1999).

| Sort        | Försöksperiod<br>(antal försök) | Rel.avk. | t-<br>värde | Rel.<br>tkv | Rel.<br>hlv | Rel.<br>sortering<br>>2,5 mm | Fri P<br>g/kg | Fytinsyra<br>% ts |
|-------------|---------------------------------|----------|-------------|-------------|-------------|------------------------------|---------------|-------------------|
| Sortmix     |                                 | 100      |             | 100         | 100         | 100                          | -             | -                 |
| Gustav      | 2005-10 (7)                     | 102      | -0,63       | 94          | 100         | 99                           | <0,1          | 1,2               |
| SW 8165-9   | 2005-10 (12)                    | 86       | 5,42        | 93          | 99          | 96                           | 1,4           | 0,3               |
| SW 26166-05 | 2006-09 (10)                    | 78       | 5,64        | 90          | 96          | 92                           | 1,6           | 0,4               |
| SW 26814-05 | 2006-10 (15)                    | 94       | 2,45        | 98          | 97          | 96                           | 1,6           | 0,3               |
| SW 07-19378 | 2008 (1)                        | 100      | 0           | 96          | 101         | 94                           | 1,5           | -                 |

Tabell 2. Avkastning och kärnkaraktärer för lågfytat-kornlinjer i fältförsök. Tkv = tusenkornvikt och hlv = hektolitervikt. Resultaten redovisas som direkta jämförelser mot mätaren och jämförelser mellan linjer sker därför indirekt över denna och som relativtal. Fri fosfor och fytinsyrainnehåll anges som absoluta tal (skörd 2008).

I den ursprungliga projektplanen var syftet att studera fodervärdet hos lågfytatkorn vid Sveriges Svincenter i Svalöv, samt att jämföra mängden fosfor i gödsel från grisar som utfodrats med korn med sänkt respektive normalt fytatinnnehåll. Under projektperioden avvecklade Sveriges Svincenter sin verksamhet och det har inte varit möjligt att hitta någon ny samarbetspartner som kunnat utföra försöken inom ramen för projektet.

### Korn med förändrad stärkelsesammansättning

Då intresset från potentiella industrikunder har varit betydligt större för waxykorn än för lågfytatkorn och korn med högt amylosinnehåll till foder, har störst tonvikt lagts på att arbeta med detta material. När det gäller korn av typen waxy nollamylos, har det framförallt handlat om att utveckla linjer med tillräckligt bra odlingsvärde jämfört med redan existerande waxy lågamylossorter. Detta har utmynnat i ett stort antal avancerade förädlingslinjer, varav några med naken kärna, som har provats i avkastningsförsök i Svalöv och på företagets försöksplatser i Mellansverige. Flera stycken har varit bättre än sorterna Cindy och Magdalena (tabell 3), vilket har varit målsättningen, även om de inte har nått upp till samma avkastningsnivå som sortblandningen. Tabell 4 visar linjernas kvalitetsegenskaper. Angiven metod för bestämning av amylos är behäftad med ett visst analysfel som är större vid låga halter. För screening inom växtförädling är dock noggrannheten tillräcklig. Ett antal waxy nollamyloslinjer har analyserats med annan metod där resultaten bekräftar att de är fria från mätbar amylos (Ajithkumar *et al.* 2005). År 2007 registrerades den första sorten, Cinnamon, på svensk sortlista. Denna har inte uppvisat samma avkastningspotential som Cindy, men

representerade genom sin kvalitet en helt unik nisch som efterfrågades av stärkelseindustrin och sorten används i kommersiell odling i liten skala.

| Sort         | Genkälla<br>(se tab. 1) | Försöksperiod,<br>(antal försök) | Rel. avk. | t-värde | Rel.<br>strl | Rel.<br>sst | Mjd<br>(1-9) |
|--------------|-------------------------|----------------------------------|-----------|---------|--------------|-------------|--------------|
| Sortmix      |                         |                                  | 100       | -       | 100          | 100         | 3            |
| Cindy        | W Compana               | 2004-09 (38)                     | 94        | 4,57    | 107          | 95          | 6            |
| Magdalena    | ”                       | 2005-11 (24)                     | 94        | 3,8     | 92           | 106         | 2            |
| Cinnamon     | Azhul                   | 2005-11 (18)                     | 89        | 5,66    | 88           | 101         | 4            |
| SW 59328     | ”                       | 2005-11 (18)                     | 97        | 1,22    | 102          | 100         | 2            |
| SW 28646     | W Titan                 | 2004-08 (20)                     | 96        | 2,73    | 92           | 94          | 2            |
| SW 78812     | W Titan                 | 2006-10 (9)                      | 97        | 1,12    | 89           | 98          | 3            |
| SW 78819     | Azhul                   | 2006-08 (7)                      | 96        | 2,74    | 90           | 100         | 3            |
| SW 78840     | W Titan                 | ”                                | 99        | 0,22    | 89           | 106         | 2            |
| SW 78873     | ”                       | ”                                | 98        | 0,73    | 96           | 100         | 5            |
| SW 78852 (n) | Azhul                   | ”                                | 84        | 4,32    | 106          | 94          | 4            |
| SW 78857 (n) | Yon-M-kei               | ”                                | 90        | 2,71    | 96           | 106         | 4            |
| SW 25475-06  | Azhul                   | 2007-09 (4)                      | 92        | 2,57    | 85           | 104         | 3            |
| SW 25657-06  | ”                       | 2007-10 (13)                     | 93        | 3,81    | 96           | 100         | 4            |
| SW 07-17713  | W Titan                 | 2008-10 (7)                      | 98        | 0,68    | 101          | 100         | 1            |

Tabell 3. Avkastning och agronomiska egenskaper hos waxykorn. n = naken kärna, strl = strå längd, sst = stråstyrka och mjd = mjöldagg. Resultaten redovisas som direkta jämförelser mot mätaren och jämförelser mellan linjer sker därför indirekt över denna och som relativtal. Sjukdomsangrepp anges som absoluta tal.

| Sort         | Genkälla  | Rel.<br>tkv | Rel.<br>hlv | Rel. sortering<br>>2,5 mm | Stärkelse<br>% | Amylos<br>% | β-glukan<br>% |
|--------------|-----------|-------------|-------------|---------------------------|----------------|-------------|---------------|
| Sortmix      |           | 100         | 100         | 100                       | -              | -           | -             |
| Cindy        | W Compana | 100         | 100         | 100                       | 62,7           | 7,0         | 7,9           |
| Magdalena    | ”         | 98          | 102         | 103                       | 61,3           | 3,8         | 6,7           |
| Cinnamon     | Azhul     | 98          | 98          | 103                       | 62,3           | 1,9         | 5,9           |
| SW 59328     | ”         | 100         | 96          | 99                        | 59,9           | 2,3         | 6,9           |
| SW 28646     | W Titan   | 102         | 100         | 104                       | 59,1           | 4,7         | 6,6           |
| SW 78812     | W Titan   | 99          | 98          | 104                       | 60,1           | 7,1         | 7,7           |
| SW 78819     | Azhul     | 94          | 99          | 105                       | 61,9           | 2,6         | 6,7           |
| SW 78840     | W Titan   | 104         | 100         | 106                       | 62,7           | 6,9         | 6,5           |
| SW 78873     | ”         | 104         | 101         | 105                       | 59,9           | 6,3         | 7,2           |
| SW 78852 (n) | Azhul     | 91          | 112         | 87                        | 65,2           | 3,8         | 6,3           |
| SW 78857 (n) | Yon-M-kei | 80          | 110         | 87                        | 62,0           | 2,8         | 6,3           |
| SW 25475-06  | Azhul     | 93          | 98          | 100                       | 62,2           | 2,5         | 6,0           |
| SW 25657-06  | ”         | 105         | 97          | 108                       | 61,6           | 2,5         | 6,0           |
| SW 07-17713  | W Titan   | 99          | 101         | 108                       | -              | 5,1         | -             |

Tabell 4. Kärnkarakterer hos waxykorn. n = naken kärna, tkv = tusenkornvikt, hlv = hektolitervikt. Resultaten redovisas som direkta jämförelser mot mätaren och jämförelser mellan linjer sker därför indirekt över denna och som relativtal. Stärkelse-, amylos- och β-glukanhalter anges som absoluta tal (skörd 2008 i Svalöv).

Hos waxy lågamylos-materialet har förädlingsarbetet främst inriktats på att ta fram linjer med förbättrad avkastning och agronomiska egenskaper jämfört med sorterna Cindy och Magdalena och bibehållen kvalitet (tabell 3 och 4). De linjer som har Waxy Titan som genkälla har haft bäst avkastning i dessa försök. Även stråegenskaper och sjukdomsresistens har förbättrats jämfört med Cindy.

I det norska projektet ”Markedstilpasset produksjon og optimal utnyttelse av norsk förkorn” (projektledare O. Taugbøl, UMB) har bland annat waxy- och högamyloskorn från Lantmännen undersökts. Studierna visade små skillnader i smältbarhet hos olika stärkelse typer och att nedbrytningshastigheten reduceras med ökat amylosinnehåll. Avsikten

har varit att knyta an till dessa studier, men fodervärdet hos högamyloskorn har inte kunnat utvärderas på grund av att det inte har funnits någon partner som kunnat utföra försöken.

### Dubbelrecessiver med förhöjt $\beta$ -glukaninnehåll

I syfte att ta fram korn med kraftigt förhöjd  $\beta$ -glukanhalt har sedan tidigare ett sjuttiofem fördblade haploider framställt ur korsningar mellan waxy nollamylos- och högamyloslinjer. DH-linjerna har analyserats med avseende på malningsenergi och prover med höga värden har analyserats för  $\beta$ -glukaninnehåll. På detta sätt har linjer med kraftigt förhöjd  $\beta$ -glukanhalt (8,5-10,3 %) identifierats. Dessa linjer har provats i avkastningsförsök (tabell 5).

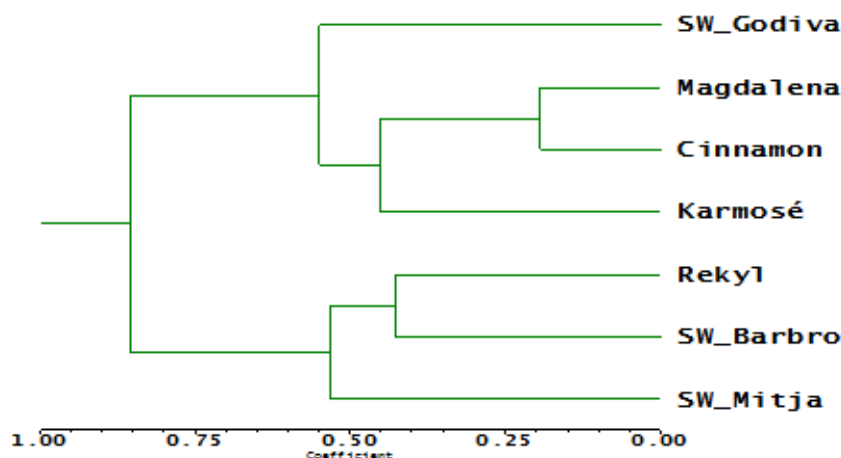
| Sort     | Rel. avk.%<br>Sortmix=100 | t-<br>värde | Tkv<br>(g) | Hlv<br>(g) | Sort. %<br>>2,5 mm | Amylos<br>(% i ts) | $\beta$ -<br>glukan<br>(% i ts) | NIT-<br>stärkelse<br>(% i ts) | Protein<br>Nx6,25<br>(%) |
|----------|---------------------------|-------------|------------|------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| Sortmix  | 100                       | -           | 47,8       | 70,4       | 93                 | -                  | -                               | -                             | -                        |
| SW 49368 | 73                        | 6,11        | 44,6       | 61,1       | 93                 | 6,0                | 8,8                             | 53,7                          | 16,0                     |
| SW 49427 | 74                        | 5,65        | 44,6       | 71,2       | 87                 | 10,4               | 8,3                             | 54,5                          | 14,8                     |

Tabell 5. Avkastning hos dubbelrecessiver i fältförsök 2006-2009, totalt åtta försök, samt kärnkvalitet 2008.

Dubbelrecessiverna har haft signifikant lägre avkastning än mätaren och mindre kärna. Stärkelseinnehållet har varit lägre än normalt med en sammansättning som mer liknar waxykorn än högamyloskorn.  $\beta$ -glukaninnehållet har varit högre jämfört med waxy- och högamyloskorn och även mycket höga proteinhalter har uppmätts.

### Molekylära markörer

Att utveckla egna markörer är kostsamt och har inte kunnat rymmas inom projektet. I stället har litteraturen inom området bevakats för att finna publikationer med lämpliga markörer. Arbetet med molekylära markörer har påbörjats på Laboratoriet i Svalöv och inledningsvis har ett antal sorter ur specialkornssortimentet jämförts med hjälp av SSR-markörer. Utifrån erhållna data har dendrogram framställts, som visar släktskap mellan sorterna Magdalena, Cinnamon och Karmosé, vilka alla har sorten Meltan som en av korsningsföräldrarna (figur 1).

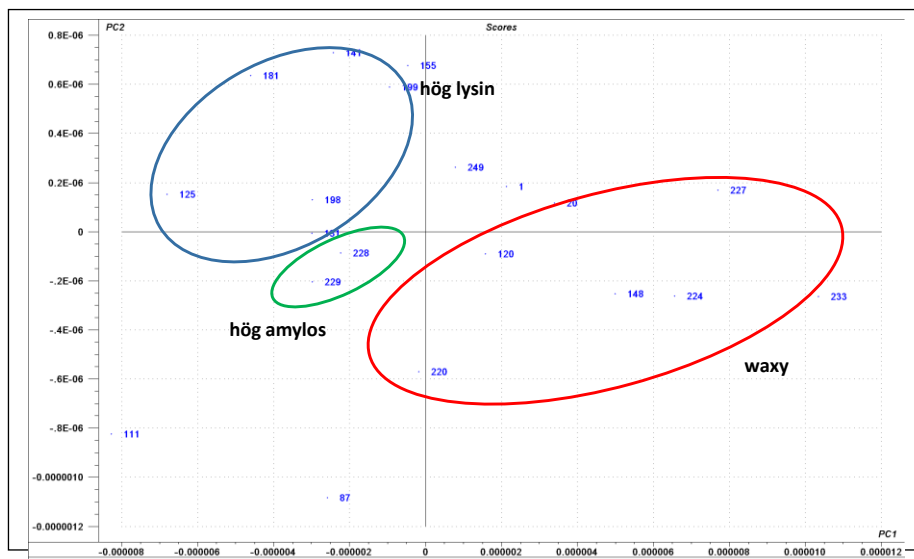


Figur1. Dendrogram för vårkorn ur Lantmännens förädlingsprogram för specialkvaliteter (SW Godiva, Magdalena, Cinnamon och Karmosé) samt sorter från förädlingen av tidigt vårkorn (Reky1, SW Barbro och SW Mitja).

### NIR/NIT-teknik och kemometri

För analys av  $\beta$ -glukan i korn med NIT-spektroskopi har en kalibrering för Infratec 1241 utvecklats. För varje prov har referensanalys utförts och spektra har registrerats som därefter

bearbetats och använts för att utveckla kalibreringen. Kalibreringen har validerats, dels genom korsvalidering dels, med oberoende test-set. Resultaten har visat god korrelation mellan NIT-kalibrering och referensmetoden för  $\beta$ -glukananalys, ( $r^2 = 0,54 - 0,89$ ). NIR/NIT-spektra i kombination med multivariata metoder har använts för att identifiera och klassificera spannmålsprover med olika kemisk sammansättning, bland annat vid Köpenhamns Universitet (Munck *et al.* 2004). Spektra betraktas som 'fingeravtryck', utan direkt koppling till kemiska referensdata genom ett kalibreringsförfarande. Genom projektet BarleyFunFood, där Lantmännen deltar som industripartner, har vi haft tillgång till 249 kornaccessioner med en stor variation i kolhydratsammansättning, däribland material från Lantmännens förädlingsprogram. För dessa prover har NIT-spektra registrerats och därefter har en PCA-analys utförts (figur 2).



Figur 2. Score-plot av PC1:2 från NIT-spektra för prover från BarleyFunFood-projektet

I figuren syns en klar uppdelning mellan exempelvis prover med hög amyloshalt och prover som är av waxytyp. Analysen har upprepats med prover från två på varandra följande år med liknande resultat.

## DISKUSSION

Forskare vid USDA-ARS i Idaho och vid Risø i Danmark har utvecklat lågfytatmutanter i soja, majs och korn (Raboy and Gerbasi 1996; Larson *et al.*, 1998; Rasmussen and Hatzack, 1998; Wilcox *et al.* 2000). Mutanterna har en lägre andel av fosfor lagrad i form av fytinsyra och innehåller en högre andel oorganisk fosfor. Den totala mängden fosfor har oftast inte förändrats i någon större utsträckning. Raboy och Cook (1999) har rapporterat mellan 50 och drygt 95 % reduktion av fytinsyra hos de *lpa*-mutanter som har framställts vid USDA-ARS. Den kraftiga förändring som har skett i fosfatmetabolismen hos de mutanter med störst reduktion av fytinsyrainnehåll (exempelvis M.955 från USDA-ARS) medför påtagligt negativa effekter på avkastning och agronomiska egenskaper, medan däremot mutanter med 50-75 % sänkning av fytinsyrainnehållet uppvisat mindre negativ påverkan på avkastningen (Raboy and Cook, 1999). I danska odlingsförsök med kornmutanter framställda vid Risø, har skördesänkningar med ca 30 % noterats för de mutanter som haft lägst fytat innehåll (Engvild *et al.*, 1999). De inledande försöken med lågfytat-linjer i Svalöv, samtliga med ursprung i amerikanska *lpa*-mutanter, visade att det behövs flera återkorsningar för att anpassa materialet och åstadkomma ett acceptabelt odlingsvärde. Under projekttiden har förädlingslinjer som har genomgått fler korsningscykler provats i avkastningsförsök. Även om ingen av dessa linjer

har nått upp till mätarsorternas skördar har ändå avkastningsnivåerna förbättrats jämfört med de första linjerna som provades, och det finns förutsättningar att öka avkastningspotentialen ytterligare genom fortsatt förädlingsarbete. Utvecklingen av enzymer går snabbt framåt och idag finns en god tillgång till effektiva fytaser att tillsätta till foder för enkelmagade djur. Andelen korn i färdigfoder är relativt liten, vilket gör att effekten av att använda korn med lågt fytatinnehåll i färdiga foderblandningar inte blir så stor totalt sett. Dessa faktorer medför att behovet av, och intresset för den här typen av korn är begränsat. Om avkastningen för lågfytatkorn kan förbättras så att det blir mer konkurrenskraftigt med moderna, högvastande foderkorn finns dock goda förutsättningar för att kunna använda denna typ av korn som foder på egen gård, speciellt inom den ekologiska produktionen där tillsats av fytas inte är tillåtet.

Resultat från tidigare fältförsök med waxykorn har visat att waxygenen inte verkar påverka avkastning eller viktiga odlings- och kärnegenskaper i någon större utsträckning (Ståhl *et al.* 1996; Persson och Christerson, 1997). Detta har bekräftats i de försök som har genomförts under projekttiden, vilket styrker vår uppfattning att det är fullt möjligt att framställa sorter som är odlingsvärda genom att korsa materialet med korn med hög och stabil avkastning och goda agronomiska egenskaper. År 2007 registrerades Cinnamon, det första kornet av typen waxy nollamylos, på den svenska sortlistan. Denna har något lägre avkastningspotential jämfört med tidigare sorter som godkänts, men representerade trots detta ett framsteg genom sin unika kvalitet och används i dag i liten skala inom svensk stärkelseindustri. Utifrån industrins önskemål prioriteras en stärkelsesammansättning med så låg amyloshalt som möjligt i kombination med högt  $\beta$ -glukaninnehåll i det fortsatta förädlingsarbetet. Linjen SW 59328 haft signifikant högre avkastning vid direkta jämförelser med sorterna Cindy, Magdalena och Cinnamon i Lantmännens avkastningsförsök. Den har även provats i officiell sortprovning under 2011-2012 och en ansökan om intagning på svensk sortlista kommer att göras under 2012 eller 2013.

Sedan Food and Drug Administration i USA och Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet godkänt hälsopåståenden för  $\beta$ -glukaner från såväl havre som korn har intresset för korn med förhöjt  $\beta$ -glukaninnehåll ökat. Det amerikanska kornet Prowashonupana har mycket högt  $\beta$ -glukaninnehåll, ca 15 %. Sorten har kraftigt förtjockade cellväggar, mycket lågt stärkelseinnehåll (21-31 %) och ett svagt utvecklat, skrupet endosperm (Andersson *et al.* 1999), vilket drastiskt försämrar avkastningen och därmed även odlingsvärdet. De dubbelrecessiver med förhöjt  $\beta$ -glukaninnehåll som har utvecklats hos Lantmännen har haft lägre stärkelseinnehåll och mindre kärnor jämfört med vanligt korn, men avsevärt bättre än Prowashonupana. De har dock inte haft tillräckligt bra avkastning och odlingsegenskaper för att kunna betraktas som odlingsvärda. Nya korsningar har gjorts men urval har hittills endast gjorts för agronomiska egenskaper. Analysarbete har påbörjats med den NIR-kalibrering som har framställts för  $\beta$ -glukaner.

En av målsättningarna inom projektet har varit att få tillgång till molekylära markörer för att kunna introducera markörbaserad selektion som ett effektivt hjälpmedel för att identifiera gener för specifika kvalitetsegenskaper. I och med den tilltagande användningen av molekylära markörer inom växtförädlingen, ökar tillgången på kommersiella markörer och det finns idag ett antal som skulle kunna utnyttjas för markörbaserat urval vid förädling av specialkvaliteter. Li *et al.* (2011) identifierade två markörer som kopplar till *amol*-genen på kromosom 1H som direkt kan analyseras i samband med dendrogrammet i figur 1. Waxy-markörer till *wax*-locus på kromosom 7H är också tillgängliga (Kim *et al.* 2011), men eftersom det är enkelt och går relativt snabbt att selektera material med avseende på waxy-egenskapen genom jodfärgning, har det inte varit motiverat att använda markörer inom



projektet, då nyttan har bedömts vara låg i förhållande till kostnaden. I framtiden kan markörer vid behov användas för att identifiera högamyloskorn eller dubbelrecessiver i klyvande populationer.

NIR/NIT-spektroskopi har under lång tid använts inom livsmedels- och jordbruksindustrin för att analysera grundläggande egenskaper såsom protein, fett, stärkelse och vattenhalt. Olika användare har utvecklat NIR/NIT-applikationer för mer komplicerade analyser och även för funktionella egenskaper. Sedan 2008 har vi intensifierat utvecklingen av avancerade NIR/NIT-kalibreringar inom Lantmännen både för laboratoriebruk, till exempel för analys av  $\beta$ -glukaner i korn, samt för analys direkt i fält i samband med skörd, genom att utveckla kalibreringar för NIR-instrument som monteras på tröska. Den goda korrelation som har uppnåtts mellan den nya NIT-kalibreringen för  $\beta$ -glukaner hos korn och referensmetoden, innebär ett framsteg i utvecklingen av effektivare verktyg för urval av specifika kvalitetsegenskaper i stora förädlingsmaterial. Metoden, som är icke-förstörande, kommer att kunna användas för screening av tidiga generationer och därmed spara både tid och resurser jämfört med om kemiska analyser skulle användas. Arbetet med NIR/NIT-spektra kan även kombineras med multivariata analysmetoder. De tydliga grupperingar i olika kluster som erhålls för olika kvalitetsparametrar innebär att NIT-spektra skulle kunna utnyttjas för exempelvis en första sortering mellan waxy- och högamylos-linjer (figur 2).

Den stora genetiska variationen hos korn utgör en gedigen bas för utveckling av kornsorter med olika egenskaper för olika användningsområden. Genom att ta fram nya sorter direkt anpassade för till exempel stärkelseindustri, eller för produktion av livsmedel med hälsofrämjande egenskaper, kan intresset för korn och kornförädling stärkas i den ökande konkurrensen från internationellt sett viktigare grödor som exempelvis majs och ris. Industrin behöver dock bearbetas ytterligare eftersom det är svårt att nå ut med dessa nya korntyper i praktiken. Hittills har de sorter som har tagits fram av Lantmännen i första hand använts inom stärkelseindustrin och endast en liten mängd har utnyttjats som kvarnråvara och i frukostprodukter. En bidragande orsak till den ringa kommersiella användningen kan vara dagens bulkhantering av spannmål. I ett sådant system är det problematiskt att särskålla och hantera mindre kvantiteter som produktionen av nischprodukter oftast innebär. Den begränsade odlingen av specialkvaliteter betyder också att förädlingen sällan bär sig ekonomiskt utan finansiellt stöd, och den blir därmed svår att försvara när lönsamhetskraven ökar. Detta problem gäller inte bara specialkvaliteter. Det skulle bland annat behövas bättre resurser för att utveckla korsningsföräldrar med unika egenskaper för att undvika att genpolen blir för snäv, inte minst för att kunna möta framtidens behov som exempelvis klimatförändring och skärpta miljökrav kan innebära. För att hitta nya genkällor är det ofta nödvändigt att söka bland exotiskt material, mutanter eller vilda släktingar. Förädling med så vida korsningar kräver omfattande arbete för att anpassa materialet till våra odlingsförhållanden, vilket är både tidskrävande, kostsamt och svårt att förena med kommersiell sortframställning. Finansieringen från SLF har bidragit till att Lantmännen kunnat arbeta med nya kvalitetsegenskaper och bygga upp en väl fungerande växtförädling av specialkvaliteter i vårkorn som ett komplement till den ordinarie förädlingen.

### **Publikationer**

Ajithkumar, A., Andersson, R., Christerson, T. & Åman, P. 2005. Amylose and  $\beta$ -glucan Content of New Waxy Barleys. *Starch/Stärke* 57, 235-239

## Övrig resultatförmedling till näringen

Lantmännens förädling av specialkorn presenterades vid workshopen ”Cereal Pre-Breeding Workshop” den 24-25 november, 2009 i Alnarp genom föredraget ”Special Qualities in Spring Barley”. Arbetet med specialkvaliteter har även presenterats inom Lantmännen i olika sammanhang, bland annat seminarier och workshops. Det har dessutom genererat förädlingsmaterial och sorter som har använts inom andra projekt, exempelvis ”BarleyFunFood”, som är ett temaforskningsprogram vid SLU, Vinnova-projektet ”Nutritionella effekter av svampförädlade spannmål” och ”Kornmalt och maltbiprodukter för design av livsmedel med specifika effekter på tarmhälsa” som är ett projekt inom TvärLivs.

## Litteratur

- Ajithkumar, A., Andersson, R., Christerson, T. & Åman, P. (2005) Amylose and  $\beta$ -glucan Content of New Waxy Barleys. *Starch/Stärke* 57, 235-239
- Andersson, A.A.M., Andersson R., Autio K. and Åman P. (1999) Chemical composition and microstructure of two naked waxy barleys. *Journal of Cereal Science* 30, 183-191.
- BeMiller, J.N. (1964) Iodometric Determination of Amylose – Amperometric Titration, in *Methods in Carbohydrate Chemistry* vol. IV, (Ed. Whistler, R.L.) Academic Press, New York, pp. 165-168
- Björck, I., Eliasson, A.-C., Drews, A.; Gudmunsson, M. and Karlsson, R (1990) Some nutritional properties of starch and dietary fibre in barley genotypes containing different levels of amylase. *Cereal Chem.* 67, 327-333.
- Engvild, K.C., Hatzack, F., Johansen, K.S. and Rasmussen (1999) Risø report Risø-R-1150.
- Eriksson, G. (1962) Radiation Induced Reversions of a Waxy Allele in Barley. *Radiation Botany* 2, 35-39
- Fujita, M. Domon, E. and Doi, Y. (1999) Grain and Starch Characteristics of the Double Recessive Lines for Amylose-free and High Amylose Gene in Barley. *Breeding Science* 49, 217-219.
- Granfeldt, Y., Liljeborg, H., Drews, A., Newman, R. and Björck, I (1994) Glucose and Insulin Responses to Barley Products: Influence of Food Structure and Amylose-Amylopectin Ratio. *Am. J. of Clin. Nutr.* 59, 1075-1082.
- Holt, R. (1955) Studies on peas: the determination of phytate phosphorus. *J Sci Food Agric* 6: 136-142
- Kim, H-S, Park, K-G, Baek, S-B and Kim, J-G (2011) Inheritance of (1-3)(1-4)-beta-D-glucan content in barley (*Hordeum vulgare* L.) *Journal of Crop Science and Biotechnology* vol. 14, NO. 4, 239-245.
- Larson, S.R., Young, K.E., Cook, A., Blake, T.K. and Raboy, V (1998) Linkage mapping two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theor. Appl. Genet.* 1,2:141-146.
- Li, Z, Li, D., Du, X., Wang, H., Larroque, O., Jenkins, C., L., D., Jobling, S.A., and Morell, M.K. (2011) The barley *amo1* locus is tightly linked to starch synthase III3 gene and negatively regulates expression of granule-bound starch synthetic genes. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 62, No. 14, 5217-5231.
- Munck, L., Møller, B., Jacobsen, S. and Søndergaard, I. (2004) Near infrared spectra indicate specific mutant endosperm genes and reveal a new mechanism for substituting starch with (1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -glucan in barley *J Cer Sci* 40, 213-222
- Oscarsson, M., Parkkonen, T. Autio, K. and Åman, P. (1997) Composition and microstructure of normal, waxy and high amylose barley samples. *Journal of Cereal Science* 26, 259-264.
- Persson, G. och Christerson, T. (1997) Korn i livsmedelsindustrin, SUF:s T 107, 141-153
- Raboy, V. and Gerbasi, P. (1996) Genetics of myo-inositol phosphate synthesis and accumulation. In Biswas, BB, Biswas S S (eds) *Myo-inositol phosphates, phosphinositides and signal transduction*. Plenum Publishing Company, New York, 257-285
- Raboy, V. and Cook, A. (1999) An update on ARS Barley low phytic acid Research, *Barley genetic Newsletter*, Vol. 29, 33-35
- Raboy, V., Cook, A., Wesenberg, D. and Rosnagel, B. (2000) Low Phytate Barleys. pp 147-153 in: *Barley Genetics VIII, Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Barley Genetics Symposium* (vol. 1), Adelaide, Australia.
- Rasmussen, S.K. and Hatzack, F. (1998) Identification of two low - phytate barley (*Hordeum vulgare* L.) grain mutants by TLC and genetic analysis. *Hereditas* 129:107-112.
- Ståhl, Å., Persson, G. and Johansson, L.Å. and Johansson H. (1996) Breeding Barley for Functional Food-Starch. *Barley Genetics VII*, 95-97.
- Swanston, J.S., Ellis, R.P. and Tiller S.A. (1997) Effects of the waxy and high amylose genes on total beta-glucan and extractable starch. *Barley Genetics Newsletter* 27, 72-74.
- Ullrich, S.E., Clancy, J.A., Eslick, R.F. and Lance, R.C.M. (1986)  $\beta$ -glucan content and viscosity of extracts from waxy barley. *Journal of Cereal Science* 4, 279-285.
- Wilcox, J.R., Premachandra, G.S., Young, K.A. and Raboy, V (2000) Isolation of High Seed Inorganic P, Low-Phytate Soybean Mutants. *Crop Sci.* 40:1601-1605