

Kandidatgener för köttkvalitet samt tillväxt och slaktkroppsegenskaper hos svenska köttraser. Bidragskontrakt SLF projekt H1050258-K00, slutrapport.

Docent Anne Lundén, Institutionen för husdjursgenetik, SLU, Uppsala

FRÅGESTÄLLNING OCH BAKGRUND

Under senare år har förts en debatt kring vår konsumtion av nötkött. Animalieproduktionen, framförallt kött från idisslare, har visat sig leda till utsläpp av växthusgaser i atmosfären. Konsumtion av så kallat rött kött från idisslare förknippas även med hälsorisker. Sammantaget förs det fram en rad argument för minskad köttkonsumtion. Rimligen borde en minskad konsumtion kompenseras med efterfrågan på kött med högre kvalitet. Ur djuretisk synpunkt är köttproduktion från dikor den mest invändningsfria samtidigt som betande djur håller våra marker öppna. Följaktligen bör vi sträva mot att det konsumerade köttet kommer från svenska köttrasdjur med god köttkvalitet. Om huvuddelen av det konsumerade nötköttet kommer från den självrekryterande köttproduktionen måste inte en minskad köttproduktion få allvarliga konsekvenser för Sveriges nötköttsproducenter.

Viktigt med köttkvalitet

Konsumenten värderar köttkvalitet utifrån dess mörhet, färg, saftighet, smak och konsistens men där mörheten anses vara allra viktigast. Ett problem är att variationen i mörhet och andra kvalitetsegenskaper är betydande trots att styckningsdetaljen (t.ex. ryggbiffen) är densamma. Med andra ord är det svårt att garantera ätkvaliteten hos butiksköttet. Enligt en amerikansk studie (Miller *et al.*, 2001) kan konsumenten gradera mörheten hos ryggbiff från olika djur. Fler skulle enligt samma studie köpa biff om köttet var garanterat mör, och säger sig även vara villiga att betala mer för mörare kött. Likaså uppges norska konsumenter, enligt Mullen *et al.* (2006), vara villiga att betala 50 % mer för en mycket mör biff. Köttets färg är en annan viktig egenskap, särskilt utseendet efter paketering och lagring, för att minimera svinnet i olika led eftersom konsumenten har låg acceptans vad gäller missfärgat kött. King *et al.* (2010) har nyligen visat att färgstabiliteten hos ryggbiff har en relativt hög arvbarhet och fann även signifikanta rasskillnader. Likaså har köttets marmorering betydelse ur ett konsumentperspektiv eftersom den visats bidra till hur man upplever smak och saftighet hos tillagat kött (Shahidi *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 2004).

Användningen av genetiska markörer i aveln ökar

Medan vi med traditionell avel (individ- och avkommeprövning) uppnått betydande förbättringar inom ekonomiskt intressanta egenskaper som t.ex. tillväxt, har köttkvalitetsegenskaperna inte beaktats. Det beror bl.a. på att dessa är kostsamma och tidsödande att mäta och enbart kan mätas på slaktade djur. Selektion direkt på genotyp vore därför särskilt intressant för köttkvalitetsegenskaper. Forskningsresultat pekar på förekomst av enskilda gener, s.k. "major genes", med stor och direkt effekt på mörhet och andra egenskaper som är av betydelse för ätkvaliteten. Dock har den absoluta majoriteten av de genetiska markörer som använts för selektion av avelsdjur sedan konceptet först lanserades på 80-talet (Geldermann *et al.*, 1985; Smith and Simpson, 1986) själva ingen direkt effekt, men så kallad Marker Assisted Selection (MAS) fungerar bra under förutsättning att en viss markörallel i princip alltid nedärvs tillsammans med ett t.ex. positivt anlag för en intressant egenskap. Det bygger på att markören befinner sig mycket nära en gen som styr egenskapen ifråga.

Det senaste decenniet har det snabbt vuxit fram effektiva metoder för genotypning vilka bygger på hundratusentals punktmutationer (Single Nucleotide Polymorphism = SNP; uttalas 'snipp') spridda över hela genomet. Samtliga dessa SNP-markörer ('snipp') sitter bundna på ett litet chip, ett sk 'snipp-chip'. Genom att applicera en individs DNA på chippet kan man genotypa individen för samtliga SNP på en och samma gång. I takt med att datorkapaciteten växer kan den stora mängden genotypinformation vägas ihop, vilket innebär att man kan leta

efter DNA-regioner över hela genomet som visar samband med köttkvalitet, och även utnyttja SNP chippet för så kallad genomisk selektion vilket redan sker inom mjölkkoaveln. Kostnaden för dessa SNP chip är ännu så länge alltför höga för att genotypa ett stort antal individer varför genotypning av väletablerade kandidatgener fortfarande är relevant. I framtiden kommer sannolikt kostnaden ha sjunkit vilket innebär att det hittills insamlade materialet kan analyseras med hjälp av chip, och då med mångfalt fler markörer. Med fler markörer ökar dessutom möjligheten att den polymorfism/"major gene" som ligger bakom en stor del av variationen i en köttkvalitetsgenskap finns bland 'snipparna' på chippet.

Aktuella kandidatgener för köttkvalitet

Många forskare har ägnat sig åt att identifiera "major genes" och genetiska markörer för köttkvalitet. De för tillfället intressantaste generna är sådana som inverkar på mörhet, t.ex. *CAPNI* som kodar för enzymet calpain och genen *CAST* som kodar för dess inhibitor calpastatin (Casas *et al.*, 2006). En kandidatgen med effekt på marmorering är *DGATI*-genen (Thaller *et al.*, 2003) medan gener som associerats med variation i köttfärg är den tidigare nämnda *CAST*, samt *SCD* (Reardon *et al.*, 2010).

Kommersiella gentester speglar inte alltid köttkvaliteten

Markörer har emellertid visat sig ha olika effekt i olika populationer (Reardon *et al.*, 2010; van Eenennaam *et al.*, 2007; Johnston and Graser, 2010). En mängd genetiska markörer marknadsförs idag för en rad köttproduktionsgenskaper. Eftersom det är kostsamt att genomföra de associationsstudier som ligger bakom identifieringen av markörerna baseras analyserna ofta på ett begränsat antal djur, ofta korsningar. Marköreffekterna bör därefter valideras i ett oberoende djurmaterial, något som ofta brister. Under 2005 publicerades två vetenskapliga artiklar som rapporterade motsägelsefulla resultat vad gällde saluförda genetiska markörer. Samtidigt förekom fall i USA där tjurar med höga och tillförlitliga avelsvärden för en given köttkvalitetsgenskap visade sig bära två kopior av den ofördelaktiga markörallelen för egenskapen ifråga. Med viss rätt började somliga köttbönder bli tveksamma till nyttan av att investera i gentester och började efterfråga oberoende valideringar av testerna. Van Eenennaam *et al.* (2007) publicerade resultat från en validering av kommersiella gentester marknadsförda av GeneSTAR och Igenity för köttkvalitetsgenskaper där djurmaterialet utgjordes av europeiska kötttraser och tropiska raser. Man konstaterade att testerna väl speglade mörheten men saknade samband med marmorering. Johnston and Graser (2010) testade effekten av GeneSTAR-markörer för bl.a. mörhet och marmorering på en rad brittiska kötttraser och tropiska raser (zebu). Återigen fungerade markörerna relativt väl för mörhet medan nyttan av testerna var begränsade vad gäller marmorering. Reardon *et al.* (2010) å sin sida fann att flera av de markörer som i litteraturen rapporterats vara associerade med köttkvalitetsgenskaper inte visade samma resultat i deras material bestående av irländska korsningsdjur. Två av de tre markörer för mörhet som Davis *et al.* (2007) fann i en studie på charolais × brahman-korsningar hade dessutom inte rapporterats tidigare, varför de föreslår att kommersiella DNA-tester ska baseras på många markörer för att fungera i flertalet raser.

Till skillnad från flertalet länder slaktas i Sverige handjuren som ungtjurar vid en genomsnittlig ålder av 18,7 månader och en vikt på 310 kg. Under 2012 slaktades 40 % som tjurar medan endast 7 % var stutar (Jordbruksstatistisk årsbok, 2013). Okastrerade djur växer fortare men ger ett kött som är mindre mört än kött från stutar vid motsvarande vikt (Lundesjö Ahnström, 2008). Det är därför särskilt angeläget att förbättra mörheten hos det svenska nötköttet. Samtidigt kan den svenska produktionsmodellen med kött från ungtjurar innebära att de kommersiella DNA-testerna för köttkvalitet inte kan användas utan korrigeringar eftersom marköreffekterna skattats på stutar.

Syftet med projektet

Ett antal kommersiella företag har etablerats vilka marknadsför DNA-tester som uppges spegla djurets anlag för köttkvalitet, framförallt mörhet och marmorering (Rincker *et al.*, 2006). Köttdjursuppfödare utnyttjar testerna för att uppnå ett säkrare urval inom den egna besättningen av avelsdjur med avseende på köttkvalitet. Vi ville undersöka huruvida dessa tester är tillämpbara för kötttrasdjur under svenska förhållanden men även analysera några kandidatgener för köttfärg samt mörhet mätt med hjälp av kompressionsanalys.

Syftet med detta arbete var alltså att undersöka kandidatgeners inverkan på kvaliteten hos kött från ungtjurar av kötttrass uppfödda i Sverige. I den första studien undersöktes samband mellan djurens olika varianter av calpain, calpastatin och leptin och köttets mörhet. I den andra studien undersöktes sambandet mellan calpain, calpastatin, leptin, DGAT1 och SCD1 och köttets pH, marmorering, färgstabilitet och vätskehållande förmåga.

MATERIAL OCH METODER

Muskelprover samlades in från 243 renrasiga ungtjurar av angus, charolais, hereford, limousin och simmental uppfödda i svenska besättningar under 2008-2010. Ungtjurar valdes eftersom de utgör den vanligaste slaktdjurskategorin i Sverige. Djuren slaktades vid en ungefärlig ålder av 14 månader och den genomsnittliga slaktvikten för de olika raserna varierade från 314 till 380 kg (Tabell 1). En 15 cm lång bit ur första delen av ryggbiffen *M. longissimus thoracis* (LT), nära revben 11-12, togs från ena sidan av slaktkroppen (valet av sida skedde slumpmässigt). Köttet vakuumpförpackades och transporterades vid en temperatur på 4° C till institutionen för livsmedelvetenskap på SLU. På den sjunde dagen efter slakt mättes pH och köttet skars upp efter ett noggrant schema. En 2 cm bred köttskiva fotograferades på båda sidor med en digitalkamera, för bestämning av marmorering. En 7 cm lång bit av köttet vakuumpackades och lagrades vid -20° C för senare mätning av mörhet och vätskehållande förmåga. För DNA-extraktion togs en liten bit kött från den inre delen av muskeln (för att undvika kontamination), köttet hackades och packades i sterila mikrocentrifugrör.

Vid mörhetsmätningarna tinades och kokades köttet. Ur det kokta köttet skars tolv 3-cm långa stavar med en 10 x 10 mm tvärsnittsytta. Stavarna skars ut på ett sådant sätt att muskelfibrernas riktning blev parallell med stavarna. Köttets mörhet mättes på ett standardiserat sätt som Warner Bratzler skärmotstånd och registrerades som maximal kraft (den kraft som behövs för att skära genom ett standardiserat köttprov, N), fasthet (mättet mellan kurvans högsta topp till origo, N/mm), och total energi (arean under kurvan, Nmm). Även kompressionsprov gjordes och köttets hårdhet (N) och den energi som går åt för att trycka ihop köttet (Nmm) registrerades. Köttets vätskehållande förmåga beräknades som andel av köttets vikt förlust vid tining och tillagning.

Marmorering bedömdes från bilderna både genom ett bildanalysprogram för skattning av intramuskulärt fett (%) och genom en subjektiv visuell bedömning där två personer individuellt rangordnade bilderna genom att poängsätta från den magraste biffen (1) till den mest marmorerade biffen (5). Färgmätningar utfördes på dag 7 till 14 med användning av en spektrofotometer. Den relativa halten av deoxymyoglobin (DeoxyMb; den form av myoglobin som bildas vid avsaknad av syre och ger köttet en lila färg), oxymyoglobin (OxyMb; bildas vid god syretillgång under minst en timma och ger köttet en körsbärsröd färg) och metmyoglobin (MetMb; bildas vid liten syretillgång alternativt då köttet blir gammalt och ger brunt missfärgat kött med dålig färgstabilitet) beräknades. Även färgparametrarna a^* (köttets rödhet), b^* (köttets gulhet) och L^* (köttets ljushet) beräknades tillsammans med färgintensitet (Chroma) och det svåröversatta "Hue angle" som anger hur mycket köttfärgen avviker från rent röd färgnyans. Egenskapernas okorrigerade medelvärden och spridning (standardavvikelse) samt antalet observationer för de analyserade raserna återfinns i Tabell 1 och 2.

Avseende mörhetsmått WBSF och kompressionsvärdet (Tabell 1) iaktogs de lägsta, och därmed också fördelaktigaste, medelvärdena hos kött från ungtjurar av angusras, medan de högsta värdena generellt sett iaktogs hos limousin- och hereford-tjurar. Medelvärde och

spridning för de övriga egenskaperna, dvs färgstabilitet, pH, marmorering samt vätskehållande förmåga, återfinns i Tabell 2. Vid dag 0 (dag 7 *post mortem*) hade Hereford-djuren det rödaste köttet, och limousin det blekaste köttet, mätt som a^* och hue angle. Även att döma av oxymyoglobinvärdet hade limousin-tjurarna det blekaste köttet. Efter 6 dagar med syretillträde uppvisade köttet från limousin-djuren fortfarande det lägsta värdet för a^* och oxymyoglobin, vilket indikerar blek färg, och hereford det lägsta värdet avseende hue angle vilket indikerar rött kött. Marmoreringsmåttan uppvisade högst värden för djuren av angus-ras och lägst värden för limousin. Avseende köttets vätskehållande förmåga uppvisade limousin-tjurarna den minsta vätskeförlusten av de fem analyserade raserna.

Tabell 1. Medelvärde och standardavvikelse (nedsänkt) för ålder vid slakt, slaktkroppsegenskaper samt olika mörhetsmått¹ för renrasiga, svenska ungtjurar av kötttras

| | Angus | Charolais | Hereford | Limousin | Simmental |
|-------------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Antal observationer (n=205) | 35 | 97 | 34 | 29 | 10 |
| Slaktkroppsegenskaper | | | | | |
| Ålder vid slakt (månader) | 15 ₂ | 14 ₁ | 15 ₁ | 14 ₁ | 13 ₁ |
| Slaktvikt (kg) | 319 ₄₃ | 386 ₂₇ | 316 ₃₅ | 368 ₂₃ | 368 ₃₁ |
| EU-konformation (15 klasser) | 7,2 _{1,7} | 10,2 _{1,4} | 6,9 _{1,1} | 12,5 _{1,4} | 9,2 _{1,4} |
| Fettklass (15 klasser) | 8,0 _{1,3} | 7,0 _{1,1} | 7,7 _{1,8} | 6,5 _{0,7} | 7,9 _{1,3} |
| Warner Bratzler skärmotstånd | | | | | |
| Maximal kraft (N) | 37,1 _{9,7} | 45,5 _{13,7} | 49,8 _{13,0} | 51,3 _{19,7} | 46,6 _{13,6} |
| Fasthet (N/mm) | 4,4 _{1,1} | 5,9 _{1,8} | 6,4 _{1,7} | 6,2 _{2,2} | 6,2 _{1,6} |
| Total energiåtgång (Nmm) | 260 ₅₈ | 300 ₇₂ | 334 ₆₇ | 319 ₁₀₄ | 301 ₆₂ |
| Kompressionsmått | | | | | |
| Hårdhet (N) | 93 ₉ | 117 ₂₈ | 125 ₂₉ | 126 ₂₃ | 120 ₂₆ |
| Kompressionsenergi (Nmm) | 439 ₆₇ | 563 ₁₃₇ | 644 ₁₃₉ | 535 ₁₂₆ | 585 ₉₇ |

¹ Peak force Maximal kraft = högsta uppmätta kraften som krävs för att skära igenom köttet;
 Fasthet = lutningen på kurvan mellan startpunkten och toppen på kurvan;
 Total energiåtgång = totala energin som krävs för att skära igenom köttet (arean under kurvan);
 Hårdhet = högsta uppmätta kraften för att sammanpressa köttet (mätt för första kompressionskurvan);
 Kompressionsenergi = totala energin som krävs för att sammanpressa köttet (arean under kurvan).

Genotypning för att bestämma djurens DNA i de fem kandidatgenerna utfördes med så kallad Real-Time PCR. Sekvenser för använda primrar och prober anges i Tabell 3.

Statistisk analys

Allel- och genotypfrekvenser för de analyserade kandidatgenerna för de 243 djuren i studien redovisas per ras i Tabell 4. För att testa effekterna av kandidatgenerna på mörhet, pH, färgstabilitet, marmorering och vätskehållande förmåga användes linjära modeller som inkluderade de fixa effekterna av genvariant och ras, en slumpmässig effekt av slakteri inom ras, och ålder inom ras som kovariat. För att korrigera för ojämn storlek på grupper mellan raserna, användes Satterthwaite's approximationsmetod. Bonferroni-justering gjordes för jämförelserna av de olika genotypernas effekt på köttets mörhet.

RESULTAT

Resultaten redovisas per kandidatgen, tillsammans med allel- och genotypfrekvenser.

Calpain (CAPN1:c.947G>C)

Vad avser SNP-markören CAPN1:c.947G>C var G-allelen den vanligast förekommande i samtliga fem raser (83 %) och vad beträffar hereford-djuren i studien bar 97 % procent minst

en kopia av G-allelen (Table 4). Mätt över samtliga raser var GG den vanligaste genotypen (69 %) utom för angus där CG var den vanligaste kombinationen. CC-genotypen var ovanlig och iaktogs inte alls hos hereford, limousin och simmental. SNP-markören visade signifikanta effekter avseende mörhet, köttfärg och marmorering (Table 5), där den relativt ovanliga C-allelen visade fördelaktiga samband med samtliga dessa egenskaper (Table 6). Kött från djur med CC-genotypen hade lägre skärnotstånd än de med GG-genotypen och individer med CC-genotypen hade dessutom mer marmorerat kött (intramuskulär fetthalt och marmoreringspoäng) än CG- och GG-genotyperna, vilka inte skilde sig åt. Det lägre värdet för hue angle som iaktogs för CC-genotypen (ju lägre desto rödare kött) skilde sig dock inte signifikant pga de höga skattningsfel som är förknippade med ovanligare genotyper. Inga SNP-effekter iaktogs avseende vätskehållande förmåga.

Tabell 2. Medelvärde per ras, med standardavvikelse inom parentes, för köttets färg¹, pH, marmorering² och vätskehållande förmåga

| | Angus | Charolais | Hereford | Limousin | Simmental |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|
| Antal observationer (n=233) | 38 | 109 | 35 | 32 | 19 |
| Antal observationer (n=218) | 37 | 100 | 35 | 29 | 17 |
| Färgmätningar (n=233) | | | | | |
| Dag 0 ³ | | | | | |
| L* (ljushet) | 35,3 (2,3) | 35,9 (2,1) | 32,8 (2,1) | 33,2 (2,5) | 34,3 (1,8) |
| a* (rödton) | 14,9 (2,5) | 13,8 (2,1) | 15,5 (1,5) | 12,4 (1,6) | 15,3 (2,3) |
| b* (gul-ton) | 14,7 (1,4) | 14,6 (1,3) | 14,1 (1,4) | 12,9 (1,4) | 15,0 (1,5) |
| Färgintensitet | 21,0 (2,6) | 20,1 (2,2) | 20,9 (1,9) | 17,9 (2,0) | 21,5 (2,6) |
| Hue angle | 44,8 (3,5) | 46,7 (3,0) | 42,4 (1,5) | 46,1 (2,1) | 44,6 (2,5) |
| DeoxyMb | 0,6 (0,0) | 0,6 (0,0) | 0,6 (0,0) | 0,6 (0,0) | 0,6 (0,0) |
| MetMb | 0,5 (0,0) | 0,5 (0,0) | 0,5 (0,0) | 0,5 (0,0) | 0,5 (0,0) |
| OxyMb | 0,7 (0,0) | 0,7 (0,0) | 0,7 (0,0) | 0,6 (0,0) | 0,7 (0,0) |
| Dag 6 ³ | | | | | |
| L* | 36,8 (2,6) | 36,9 (2,2) | 34,2 (1,7) | 33,4 (2,5) | 35,5 (1,8) |
| a* | 15,2 (2,4) | 14,1 (2,8) | 15,8 (1,7) | 7,6 (3,2) | 15,8 (3,0) |
| b* | 15,2 (1,9) | 15,4 (1,4) | 15,3 (1,1) | 11,7 (1,8) | 15,6 (1,6) |
| Färgintensitet | 21,6 (2,7) | 21,0 (2,7) | 22,0 (1,9) | 14,0 (3,2) | 22,3 (3,1) |
| Hue angle | 45,2 (4,1) | 48,1 (4,8) | 44,2 (2,4) | 58,2 (6,4) | 45,1 (4,8) |
| DeoxyMb | 0,6 (0,0) | 0,6 (0,0) | 0,6 (0,0) | 0,7 (0,1) | 0,6 (0,0) |
| MetMb | 0,7 (0,1) | 0,6 (0,1) | 0,6 (0,1) | 1,0 (0,2) | 0,6 (0,2) |
| OxyMb | 0,7 (0,0) | 0,7 (0,1) | 0,7 (0,0) | 0,5 (0,1) | 0,7 (0,1) |
| pH (n = 233) | 5,6 (0,0) | 5,6 (0,1) | 5,6 (0,0) | 5,6 (0,1) | 5,6 (0,1) |
| Marmorering ² (n = 233) | | | | | |
| Poäng | 2,9 (0,8) | 2,0 (0,5) | 2,3 (0,6) | 1,8 (0,4) | 2,3 (0,6) |
| IMF (%) | 3,6 (1,6) | 1,9 (0,6) | 2,1 (0,8) | 1,8 (0,7) | 2,3 (0,8) |
| Vätskeh. förmåga ⁴ (n = 218) | | | | | |
| Tining (%) | 4,7 (1,1) | 4,6 (1,4) | 5,2 (1,2) | 3,9 (1,7) | 5,2 (1,0) |
| Tillagning (%) | 21,0 (2,6) | 22,0 (2,2) | 22,2 (2,6) | 18,7 (1,6) | 22,9 (2,5) |
| Totalt (%) | 24,5 (3,5) | 25,6 (2,6) | 26,2 (2,7) | 21,9 (2,3) | 27,0 (2,4) |

¹ Färgintensitet = $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$; Hue angle (avvikelse från rent röd färgnyans) = $\arctan b^*/a^*$; DeoxyMb = $1.5 - (K/S474nm)/(K/S525nm)$; OxyMb = $1 - (K/S610)/(K/S525)$; MetMb = $2 - (K/S572)/(K/S525)$.

² IMF (%): intramuskulär fetthalt, mätt som procent vita pixlar vid bildanalys. Poäng: subjektivt mått som går från 1 (låggradig marmorering) till 5 (höggradig marmorering).

³ Dag 0 and Dag 6 innebär lagring med lufttillträde under 7 respektive 13 dagar *post mortem*.

⁴ Vätskehållande förmåga, mätt som köttets vikt förlust vid tining respektive tillagning.

Calpastatin (CAST:c.155C>T)

Vad avser SNP-markören CAST:c.155C>T var T-allelen vanligare än C i samtliga raser utom simmental (Table 4). Alla tre genotyper återfanns i samtliga raser utom simmental där TT-genotypen saknades. Den heterozygota genotypen var vanligast hos raserna charolais, hereford and limousin, medan TT var vanligast hos angus och CC hos simmental. SNP-markören visade signifikanta effekter avseende samtliga studerade mörhetsmått (Tabell 5) och där T-allelen visade fördelaktiga samband med samtliga dessa mått (Tabell 6). Effekterna av CT- och TT-genotyperna skilde sig inte vilket indikerar en dominant effekt av T-allelen. Vad

gäller färgstabilitet, marmorering och vätskehållande förmåga iaktogs inga samband med CAST:c.155C>T.

DGAT1 (K232A)

K-allelen av DGAT1 K232 var tämligen ovanlig bland djuren i denna studie; angus 19 %, charolais 11 %, hereford 0 %, limousin 6 %, simmental 0 %. KK-genotypen saknades helt hos samtliga raser utom angus där genotypen iaktogs hos två individer. SNP-markören visade signifikanta effekter avseende marmorering (Table 5) och där den heterozygota genotypen KA hade högre värden för både intramuskulär fetthalt och marmoreringspoäng jämfört med AA-genotypen. I övrigt iaktogs inga samband med DGAT1 K232.

SCD1 (SCD1.878 G>A)

Vad avser SNP-markören SCD1.878 G>A var G-allelen den vanligast förekommande i samtliga fem raser med en frekvens mellan 57 och 74 % (Table 4). Angus och hereford hade liknande fördelning mellan de tre genotyperna, med en lägre frekvens av AA genotypen (2 respektive 6 %), medan övriga tre raser uppvisade en jämnare fördelning. SNP-markören visade signifikanta effekter avseende färgstabilitet dag 6 (Table 5). Genotyper som inkluderar A-allelen uppvisade högre värden avseende a*, b*, färgintensitet samt relativ andel oxymyoglobin i köttet efter 6 dagar med syretillträde (Tabell 6). Effekterna av AA- och AG-genotyperna skilde sig inte vilket indikerar en dominant effekt av A-allelen. Frånsett köttfärg dag 6 iaktogs inga samband med SCD1.878 G>A.

Leptin (UASMS2C>T)

Vad avser SNP-markören UASMS2C>T var C-allelen den vanligast förekommande i samtliga raser (Table 4). Alla tre genotyper återfanns i samtliga raser medan TT-genotypen förekom i låg frekvens (i genomsnitt 11 %). Hos raserna charolais och hereford påträffades CC-genotypen oftare än CT medan motsatsen gällde för de andra tre raserna. SNP-markören visade samband med mörhet mätt som kompression samt några av köttfärgsmåtten (Tabell 5). För båda kompressionsmått uppvisade den heterozygota genotypen CT de lägsta värdena (Tabell 6). C-allelen visade sig vara associerad med den bästa färgstabiliteten dag 6, dvs 13 dagar *post mortem*, både mätt som färgintensitet och relativ andel deoxymyoglobin. Däremot fanns det inte någonskillnad mellan CC- och CT-genotyperna, vilka däremot skilde sig från TT-genotypen (Tabell 6). I övrigt iaktogs inga samband med UASMS2C>T.

SLUTSATSER FRÅN PROJEKTET

Enskilda gener har betydelse för köttkvaliteten hos svenska ungtjurar av köttras. Följaktligen kan köttkvaliteten förbättras genom att utveckla skräddarsydda DNA-test som kan utnyttjas i nötköttsaveln. Även om vi i denna studie bara iakttog smärre rasskillnader avseende effekterna av de studerade kandidatgenerna, indikerar bristen på överensstämmelse mellan forskningsstudier att sambanden mellan markörer och egenskaper skiljer mellan raser, sannolikt beroende på skillnader i bakgrundsgenomet. Detta kan ha betydelse för den generella tillämpbarheten av SNP chips som utvecklats baserat på studier av enstaka raser.

Calpastatin-markören CAST:c.155C>T visade sig i denna studie fungera som den bästa markören för mörhet, där T-allelen tycks ha en dominant effekt. Detta trots att calpain-markören CAPN1:c.947G>C ingår som en markör för mörhet i det kommersiella testet Gene STAR. Vårt att notera är att inom nämnda calpain-markör tycks i detta djurmateriel G-allelen, den vanligaste SNP-allelen (benämns T2 i Gene STAR-testet), ha negativa effekter på mörheten. Samma allel visade även negativa samband med marmorering. Det fördelaktiga sambandet mellan T-allelen inom CAST:c.155C>T och köttets mörhet stöds även av resultat från andra köttraser. Generna för leptin, SCD1 och calpain kan ses som kandidatgener för köttfärg, om än med varierande grad av orsakssamband. Samma DGAT1-allel som är associerad med hög mjölkfetthalt visade även positivt samband med köttets marmorering.

Tabell 3. Primer- och probe-sekvenser (5' till 3') för genotypning av kandidatgener för köttkvalitet hos renrasiga ungtjurar av kötttras uppfödda i Sverige

| | Kandidatgen | | | | |
|--------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------|-------------------|---------------------------|
| | Calpain ¹ | Calpastatin ¹ | DGAT1 ² | SCD1 ³ | Leptin (LEP) ⁴ |
| SNP ⁵ namn | <i>CAPNI</i> :c.947 | <i>CAST</i> :c.155 | DGAT1 | SCD1.878 | <i>UASMS2</i> |
| Utbyte ⁶ | G>C | C>T | AA>GC | G>A | C>T |
| Translation ⁷ | Gly316Ala | Pro52Leu | K232A (Lys232Ala) | Ala 293Val | promoter region |
| Forward primer (5') | GGCTGGGCAGGTC | AACAAGCCTTGGGAG | CGCTTGCTCGTAG | CCCCGAGAGAATATT | AGGTGCCCAGGGACTCA |
| Reverse primer (3') | AGCTGCTCCCGCA | AAAGTAGGTGTCCTTTT | CGCGGTAGGTCAG | CCACTAGACGTGGTC | CAACAAAGGCCGTGTGACA |
| VIC probe | TGTAAG | CATGTCCA | GTTGTC | TTGCT | |
| FAM probe | CCACGGCGTTCCA | AAAAAGCCCCGGTCC | CGTTGGCCTTCTTAC | CTTACCCGCAGCTCC | CAAGCTCTAGAGCCTGTGT |
| Genebank | AF252504 | NM_174003.2 | AY065621 | AY241932.1 | AB070368 |

¹Barendse et al. (2007); ²Grisart et al. (2002); ³Taniguchi et al. (2004); ⁴Nkrumah et al. (2005).

⁵Single Nucleotide Polymorphism.

⁶Nukleotidutbyte mellan SNP-allelerna.

⁷Translationsprodukten, dvs det resulterande aminosyrautbytet.

Tabell 4. Allel- och genotypfrekvenser (%) för SNPs i kandidatgener för köttkvalitet hos renrasiga ungtjurar av kötttras uppfödda i Sverige

| Ras | N | Calpain ¹ | | | | | Calpastatin ² | | | | | DGAT1 ³ | | | | | SCD1 ⁴ | | | | | Leptin ⁵ | | | | |
|-----------|-----|----------------------|----|----|-------|----|--------------------------|----|----|-------|----|--------------------|----|-----|-------|-----|-------------------|----|----|-------|----|---------------------|----|----|-------|----|
| | | Genotyp | | | Allel | | Genotyp | | | Allel | | Genotyp | | | Allel | | Genotyp | | | Allel | | Genotyp | | | Allel | |
| | | CC | CG | GG | C | G | CC | CT | TT | C | T | KK | KA | AA | K | A | GG | GA | AA | G | A | CC | CT | TT | C | T |
| Angus | 43 | 11 | 49 | 40 | 36 | 64 | 5 | 32 | 63 | 21 | 79 | 2 | 33 | 65 | 19 | 81 | 51 | 47 | 2 | 74 | 26 | 37 | 42 | 21 | 58 | 42 |
| Charolais | 109 | 4 | 21 | 75 | 14 | 86 | 18 | 50 | 32 | 43 | 57 | 0 | 21 | 79 | 11 | 89 | 39 | 50 | 11 | 64 | 36 | 76 | 23 | 1 | 88 | 12 |
| Hereford | 35 | 0 | 6 | 94 | 3 | 97 | 14 | 54 | 31 | 41 | 59 | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | 60 | 34 | 6 | 77 | 23 | 54 | 29 | 17 | 69 | 31 |
| Limousin | 35 | 0 | 31 | 69 | 16 | 84 | 17 | 52 | 31 | 43 | 57 | 0 | 11 | 89 | 6 | 94 | 31 | 54 | 14 | 59 | 41 | 31 | 63 | 6 | 63 | 37 |
| Simmental | 21 | 0 | 33 | 67 | 17 | 83 | 52 | 48 | 0 | 76 | 24 | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | 38 | 38 | 24 | 57 | 43 | 43 | 48 | 9 | 67 | 33 |

¹*CAPNI*:c.947G>C; ²*CAST*:c.155C>T; ³*DGAT1* K>A; ⁴*SCD1*.878G>A; ⁵*UASMS2*

REFERENSER

- Barendse, W., Harrison, B. E., Hawken, R. J., Ferguson, D. M., Thompson, J. M., Thomas, M. B., & Bunch, R. J. (2007). *Genetics*, 176(4), 2601-2610.
- Casas, E., White, S. N., Wheeler, T. E., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, C. C., Jr., Johnson, D. D. & Smith, T. P. L. (2006). *J. Anim. Sci.* 84:520-525.
- Davis, G.P., Moore, S.S., Drinkwater, R.D., Shorthose, W.R., Loxton, I.D., Barendse, W. and Hetzel, D.J.S. (2007). *Anim Genet* 39:40-45.
- Geldermann, H., Pieper, U. and Roth, B. (1985). *Theor Appl Genet* 70:138-146.
- Grisart, B., Coppieiers, W., Farnir, F., Karim, L., Ford, C., Berzi, P., Cambisano, N., Mni, M., Reid, S., Simon, P., Spelman, R., Georges, M., & Snell, R. (2002). *Genome Res.* 12, 222-231.
- Johnston, D.J. and Graser, H.-U. (2010). *J Anim Sci* 2010.88:1917-1935.
- Jordbruksstatistisk årsbok (2013). <http://www.jordbruksverket.se/download/18.765a35dc13f7d0bf7c4647/1372238978529/Kapitel+15+Industriproduktion+m.m..pdf>
- King, D.A., Shackelford, S.D., Kuehn, L.A., Kemp, C. M., Rodriguez, A.B., Thallman, R. M. and Wheeler, T. L. (2010). *J Anim Sci* 2010.88:1160-1167.
- Lundesjö Ahnström, M. (2008) Influence of pelvic suspension on beef meat quality. Doctoral thesis no. 2008:61. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Miller, M F., Carr, M. A. Ramsey, C. B. Crockett K. L. and L. C. Hoover (2001). *J Anim Sci.* 79,12:3062-3068.
- Mullen, A.M, Stapelton RC, Corcoran D, Hamill, RM. White A. (2006). *Meat Sci.* 74: 3-16.
- Nkrumah, J. D., Li, C., Yu, J., Hansen, C., Keisler, D. H., & Moore, S. S. (2005). *J. Anim. Sci.* 83(1), 20-28.
- Reardon, W, Mullen AM, Sweeney T, Hamill RM. (2010). *Meat Sci.* 86:270-5.
- Rincker, C. B., Pyatt, N. A., Berger, L. L. & Faulkner, D. B. (2006). *J. Anim. Sci.* 84:686-693.
- Shahidi, F. (2002). Lipid-derived flavors in meat products. In J. Kerry, J. Kerry, & D. Ledward (Eds.), *Meat processing: Improving meat quality* (pp. 105-121). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Smith, C. and Simpson, S.P. (1986). *J Anim Breed Genet* 103:205-217.
- Taniguchi, M., Utsugi, T., Oyama, K., Mannen, H., Kobayashi, M., Tanabe, Y., Ogino, A., & Tsuji, S. (2004). *Mammalian Genome*, 14, 142-148.
- Thaller, G., Kühn, C., Winter, A., Ewald, G., Bellman, O., Wegner, J., et al. (2003). *Anim. Genet.* 34, 354-357.
- Thompson, J. M. (2004). *Austral. J. Exp. Agric.* 44, 645-652.
- Van Eenennaam, AL, J, Li., Thallman, R.M., Quaas, R.L., (2007). *J. Anim. Sci.* 85: 891-90.

PUBLIKATIONER FRÅN PROJEKTET

Avhandlingar

- Ekerljung, M. 2012. Candidate Gene Effects on Beef Quality. Uppsala: Sveriges lantbruksuniv., Rapport / SLU, Institutionen för husdjursgenetik, 1401-7520 ; 148. ISBN 978-91-576-9101-9 [Licenciate thesis]
- Li, X. 2013. Genetic and Ageing Effects on Beef Quality. Uppsala: Sveriges lantbruksuniv., Acta Universitatis agriculturae Sueciae, 1652-6880 ; 7. ISBN 978-91-576-7764-8 [Doctoral thesis]

Publikationer i internationella vetenskapstidskrifter med referee system

- Ekerljung, M., Li, X., **Lundén, A.**, Lundström, K., Marklund, S. & Näsholm, A. (2012). Associations between candidate SNPs in the calpastatin, calpain 1 and leptin genes and meat tenderness among Swedish beef populations. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science*, 62:114-119.
- Li, X., Ekerljung, M., Lundström, K. & **Lundén, A.** (2013). Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with colour, marbling, and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Science*, 94:153-158.

Publikationer vid internationella vetenskapliga konferenser

- Ekerljung, M., Li, X., Näsholm, A., Lundström, K., Marklund, S. and Lundén, A. (2010). DGAT1 K232A polymorphism, marbling and tenderness in Swedish beef breeds. Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 1-6 August 2010, Leipzig, Germany, 4 pp
- Li, X., Ekerljung, M., Lundén, A. and Lundström, K. (2010). Effect of DGAT1 polymorphism on meat shear force and compression in Swedish beef breeds. Proceedings of the 56th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), 15-20 August 2010, Jeju, Korea, 4 pp.

Abstracts vid internationella vetenskapliga konferenser

- Ekerljung, M., Li, X., Lundström, K., Lundén, A., Marklund, S., & Näsholm, A. (2011). Association of four SNPs with carcass and meat quality traits in Swedish young bulls of the Charolais breed. Abstract from the 62nd EAAP Annual meeting in Stavanger, Norway, 29 August-2 September 2011, page 26.

Populärvetenskapliga publikationer o. dyl./resultatförmedling till näringen

- Direkt kontakt med representanter för näringen (bönder, slakterier och kyltransportföretag) har skett genom mail, brev och telefon.
- Diskussioner med referensgruppen har skett via mail samt vid ett fysiskt möte december 2010 i Uppsala. I referensgruppen har ingått Hans Stålhammar, Jens Fjelkner, Per Mårtensson och Anna Jamieson.
- Kerstin Lundström och Marie Ekerljung har kortfattat informerat om projektet i Charolais-tidningen vid ett flertal tillfällen och Marie har även informerat om projektet i tidningen Nötkött.
- Marie Ekerljung har haft informationsföreläsningar, skapat kontakter med rasklubbarna och delat ut flygblad om projektet vid följande tillfällen: Gismestad, nov. 2008; Mila, feb. 2009; Elmia, sept. 2008; Kötttriksdagen, okt. 2008; Angusklubben's årsmöte, maj 2010; Herefordklubben's årsmöte, maj 2009; Team Ugglarp, feb. 2009; Fruänges kött och chark; Scan Uppsala;
- Anna Näsholm deltog i mötet med Team Ugglarp, hade informationen tillsammans med Marie Ekerljung på Gismestad och deltog vid Mila-utställningen.
- Marie Ekerljung informerade om projektet på SLUFood's hemsida.
- Marie Ekerljung har haft Hans Stålhammar som mentor inom forskarskolan LiFT.
- Naringen samt SLU Skara fick skriftlig inbjudan till Marie Ekerljungs licentiatseminarium.

Tabell 5. Effekter av variation i kandidategener för köttkvalitet hos renrasiga ungtjurar av kötttras uppfödda i Sverige, angivet som *P*-värden (enbart egenskaper är inkluderade för vilka statistiskt signifikanta effekter iaktogs)

| Egenskap ¹ | SNP ² | | | | | Ras ³ |
|-------------------------------------|------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|------------------|
| | CAPN1 | CAST | DGAT1 | SCD1 | LEP | |
| Warner Bratzler skärnotstånd | | | | | | |
| Maximal kraft (N) | 0,079 | <0,001 | | | 0,156 | 0,060 |
| Fasthet (N/mm) | 0,005 | <0,001 | | | 0,082 | 0,144 |
| Total energiåtgång (Nmm) | 0,096 | <0,005 | | | 0,134 | 0,028 |
| Kompressionsmått | | | | | | |
| Hårdhet (N) | 0,346 | 0,001 | | | 0,039 | 0,172 |
| Kompressionsenergi (Nmm) | 0,012 | <0,001 | | | 0,015 | 0,091 |
| Köttfärg dag 0 | | | | | | |
| L* | 0,282 | 0,553 | 0,501 | 0,924 | 0,176 | 0,002 |
| Hue angle | 0,085 | 0,519 | 0,441 | 0,612 | 0,543 | 0,012 |
| Köttfärg dag 6 | | | | | | |
| L* | 0,693 | 0,261 | 0,213 | 0,964 | 0,169 | 0,065 |
| a* | 0,150 | 0,606 | 0,751 | 0,003 | 0,053 | 0,621 |
| b* | 0,876 | 0,439 | 0,612 | 0,001 | 0,085 | 0,973 |
| Färgintensitet | 0,536 | 0,541 | 0,991 | 0,001 | 0,040 | 0,860 |
| Hue angle | 0,006 | 0,680 | 0,392 | 0,334 | 0,485 | 0,350 |
| DeoxyMb | 0,343 | 0,501 | 0,743 | 0,498 | 0,027 | 0,225 |
| OxyMb | 0,357 | 0,490 | 0,867 | 0,002 | 0,054 | 0,454 |
| pH | 0,438 | 0,416 | 0,520 | 0,479 | 0,278 | 0,565 |
| Marmorering | | | | | | |
| Poäng | 0,028 | 0,516 | 0,021 | 0,561 | 0,404 | 0,692 |
| IMF (%) | 0,043 | 0,104 | 0,017 | 0,942 | 0,460 | 0,039 |
| Vätskehållande förmåga | | | | | | |
| Total viktsförlust (%) | 0,169 | 0,969 | 0,734 | 0,856 | 0,950 | 0,015 |

¹För beskrivning av egenskaperna se tabell 1 och 2.

²CAPN1=CAPN1:c.947, CAST=CAST:c.155, DGAT1=DGAT1 K>A, SCD1=SCD1.878, LEP=UASMS2.

För DGAT1 K>A and SCD1.878G>A iaktogs ingen statistiskt signifikant variation för något av de analyserade mörhetsmåten.

³Effekt av ras analyserades utan att inkludera effekt av SNP i modellen pga sammanblandning mellan effekterna.

P-värden lägre än 0,05 anges i fetstil.

Tabell 6. Genotyp effekter (Least squares means \pm standardfel) av kandidatgener för köttkvalitet hos renrasiga ungtjurar av kötttras uppfödda i Sverige (enbart egenskaper är inkluderade för vilka statistiskt signifikanta effekter iaktogs)

| SNP | Egenskap ¹ | n | Genotyp ² | | | P-värde |
|---------|------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------|
| | | | 11 | 12 | 22 | |
| CAPN1 | <i>WB skärmostånd</i> ³ | 200 | | | | |
| | Fasthet (N/mm) | | 5,0 \pm 0,4 ^a | 5,9 \pm 0,2 ^{ab} | 6,4 \pm 0,2 ^b | 0,005 |
| | <i>Kompressionsmått</i> | 200 | | | | |
| | Kompr.energi (Nmm) | | 494 \pm 34 | 547 \pm 20 | 583 \pm 17 | 0,012 |
| | <i>Köttfärg Dag 6</i> | 229 | | | | |
| | Hue angle | | 46,8 \pm 1,82 ^{ab} | 49,1 \pm 1,36 ^a | 47,3 \pm 1,32 ^b | 0,006 |
| | <i>Marmorering</i> | 229 | | | | |
| | Poäng | | 2,90 \pm 0,22 ^a | 2,31 \pm 0,12 ^b | 2,38 \pm 0,10 ^b | 0,028 |
| IMF (%) | | 3,32 \pm 0,31 ^a | 2,54 \pm 0,16 ^b | 2,63 \pm 0,14 ^b | 0,043 | |
| CAST | <i>WB skärmostånd</i> ³ | 200 | | | | |
| | Maximal kraft (N) | | 53 \pm 3 ^a | 43 \pm 2 ^b | 43 \pm 2 ^b | <0,001 |
| | Fasthet (N/mm) | | 6,8 \pm 0,3 ^a | 5,3 \pm 0,2 ^b | 5,1 \pm 0,2 ^b | <0,001 |
| | Total energy (Nmm) | | 330 \pm 16 ^a | 284 \pm 12 ^b | 287 \pm 12 ^b | <0,005 |
| | <i>Kompressionsmått</i> | 200 | | | | |
| | Hårdhet (N) | | 129 \pm 6 ^a | 112 \pm 5 ^b | 112 \pm 5 ^b | 0,001 |
| | Kompr.energi (Nmm) | | 607 \pm 27 ^a | 519 \pm 19 ^b | 497 \pm 20 ^b | <0,001 |
| DGAT1 | <i>Marmorering</i> | 229 | | | | |
| | Poäng | | - | 2,64 \pm 0,13 ^a | 2,42 \pm 0,11 ^b | 0,021 |
| | IMF (%) | | - | 2,99 \pm 0,18 ^a | 2,67 \pm 0,15 ^b | 0,017 |
| SCD1 | <i>Köttfärg Dag 6</i> | 229 | | | | |
| | a* | | 13,2 \pm 0,75 ^b | 14,1 \pm 0,74 ^a | 14,4 \pm 0,83 ^a | 0,003 |
| | b* | | 14,3 \pm 0,47 ^b | 14,8 \pm 0,47 ^a | 15,1 \pm 0,51 ^a | 0,001 |
| | Färgintensitet | | 19,6 \pm 0,76 ^b | 20,6 \pm 0,75 ^a | 20,9 \pm 0,83 ^a | 0,001 |
| | OxyMb | | 0,66 \pm 0,02 ^b | 0,68 \pm 0,02 ^a | 0,69 \pm 0,02 ^a | 0,002 |
| LEP | <i>Kompressionsmått</i> | 200 | | | | |
| | Hårdhet (N) | | 120 \pm 5 | 113 \pm 5 | 121 \pm 5 | 0,039 |
| | Kompr.energi (Nmm) | | 543 \pm 19 | 507 \pm 21 | 574 \pm 26 | 0,015 |
| | <i>Köttfärg Dag 6</i> | 229 | | | | |
| | Färgintensitet | | 20,9 \pm 0,75 ^a | 20,6 \pm 0,76 ^a | 19,6 \pm 0,84 ^b | 0,040 |
| | DeoxyMb | | 0,59 \pm 0,01 ^b | 0,59 \pm 0,01 ^b | 0,60 \pm 0,01 ^a | 0,027 |

¹ För beskrivning av egenskaperna se tabell 1 och 2.

² Genotyp samt allel 1 och allel 2; CAPN1:c.947G>C: C/G, CAST:c.155C>T: C/T, DGAT1 K>A: AA/GC, SCD1.878G>A: G/A, UASMS2C>T: C/T.

³ Warner Bratzler skärmostånd.

^{a, b} Värden inom rad med olika upphöjda bokstäver skiljer signifikant ($P < 0,05$) efter Bonferroni-korrektion.