

Brug af DNA-markører til at forbedre kødkvaliteten hos kvæg
– nye muligheder

Rapport udarbejdet af:

Mette Christensen, Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole
Margrethe Therkildsen, Danmarks JordbrugsForskning

December 2006

Førord

Denne rapport er et resultat af en vidensyntese omhandlende brug af DNA-markører til at forbedre kødkvaliteten hos kvæg udarbejdet af Adjunkt Mette Christensen, KVL, Institut for Fødevarevidenskab, Kødvidenskab og Projektsejiorforsker Margrethe Therkildsen, DJF, Afd. for Råvarekvalitet. Vi vil gerne takke Udviklingsleder Søren Borchersen, Dansire og Seniorforsker Mogens Sandø Lund, DJF, Afd. for Genetik og Bioteknologi for faglig støtte og frugtbare diskussioner. Vi ønsker også at takke lektor Per Ertbjerg, KVL, Institut for Fødevarevidenskab, Kødvidenskab og seniorforsker Mogens Vestergaard, DJF, Afd. for Husdyrsundhed, Velfærd og Ernæring for deres støtte i forbindelse med igangsætning af dette projekt og for gennemlæsning og diskussion af rapporten.

Arbejdet med denne vidensyntese er finansieret af Kvægafgiftsfonden.

December, 2006

Adjunkt Mette Christensen
Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole
Institut for Fødevarevidenskab

Projektsejiorforsker Margrethe Therkildsen
Danmarks JordbrugsForskning
Afdelingen for Råvarekvalitet

Indholdsfortegnelse

FORORD	I
INDHOLDSFORTEGNELSE	II
1. INDLEDNING	1
1.1. Baggrund	1
1.2. Enzymsystemer/calpainsystemet	3
1.3. Status på resultater fra EU-projekt (GemQual)	3
1.4 Opsummering	4
1.5 Formål	4
2. DEFINITION AF KØDKVALITET	5
2.1 Slagtekvalitet	5
2.2 Kød kvalitet	5
2.2.1 Teknologisk kvalitet	5
2.2.2 Ernærings- og sundhedsmæssig kvalitet	5
2.2.3 Spisekvalitet	5
2.3 Etisk kvalitet	6
3. MULIGE DNA-MARKØRER TIL FORBEDRING AF SPISEKVALITETEN	7
3.1. Mørhed	7
3.1.1 CAST	7
3.1.2 CAPN1	8
3.1.3 Myostatin.....	8
3.2. Intramuskulært fedt	9
3.2.1 Leptin	9
3.2.2 Thyreoglobulin (TG)	10
3.2.3 DGAT1	11

4. EKSISTERENDE GENTESTS	12
4.1 Hvad testes der for?	12
4.1.1 Merial	12
4.1.2 GeneSTAR®	12
4.2 Metoder	13
4.3 Økonomi	15
4.4 Evaluering af kommercielle gentests	15
4.4.1 Mørhed	16
4.4.1.1 Opsummering	17
4.4.2 Marmorering	18
4.4.2.1 Opsummering	19
5. VURDERING AF RELEVANS UNDER DANSKE FORHOLD	20
5.1 Variation i kødkvalitet	20
5.2 Afregning	21
6. ANBEFALINGER	22
6.1 Fremtidig indsats	22
LITTERATURLISTE	24
APPENDIKS	29

1. Indledning

Denne rapport tager udgangspunkt i, hvordan man kan udnytte kendskabet til de enkelte dyrs DNA til forbedring af kødkvaliteten hos kvæg.

1.1. Baggrund

Kødets spisekvalitet (farve, mørhed, saftighed, smag) er af stor betydning for forbrugerne, og er afgørende for forbrugerens gentagne køb af produktet. Forbrugeranalyser har vist, at mørhed er den mest betydningsfulde spisekvalitetssegenskab af kød fra kreaturer.

Kødets sejhed påvirkes af en lang række faktorer både i primærproduktionen (genetik, fodring, alder, opstaldning, håndtering), på slagteriet (bedøvelse, køling, modningstid) og hos forbrugerne i forbindelse med opbevaring og tilberedning. Desuden er der stor variation i sejhed mellem de enkelte muskler. Kødets sejhed udgøres hovedsageligt af to muskelkomponenter - muskelfibre og bindevæv, og ovennævnte faktorer vil påvirke en eller begge komponenter. Bindevævsindhold og mængden af tværbindinger i bindevævet påvirker kødets sejhed. Generelt er det således, at jo højere indhold af bindevæv og jo flere varmem stabile tværbindinger des sejere bliver kødet. Kølelagring mindsker kødets sejhed på grund af enzymatisk nedbrydning af de proteinstrukturer i muskelfibre, som holder kødet sammen, hvilket resulterer i mere mørt kød. Mængden af intramuskulært fedt (IMF) og dermed graden af fedtmarmorering påvirker også kødets spisekvalitet. IMF vil bidrage positivt til kødets saftighed og har sandsynligvis også en vis fortyndende effekt på de to komponenter (bindevæv og myofibriller), der bidrager til sejhed, således at tyggemodstanden reduceres, når kødet indeholder mere fedt. Endelig vil et højere IMF niveau også have betydning for robustheden af kødet i forbindelse med tilberedning.

Mørhed måles ofte som Warner Bratzler Shear force (WBSF, konsistens), og udtrykker den kraft der skal til for at skære et tilberedt stykke kød over, dvs. jo større WBSF, des mere sejt er kødet.

Fokus på at forbedre kødkvaliteten via dyrenes genetiske potentiale er ikke noget nyt indsatsområde i dansk kødproduktion. Bech Andersen et al. (1977) undersøgte 1319 kalve slagtet ved 250 kg og 1011 ungtyre slagtet ved 450 kg af racerne SDM, RDM og DRK og fandt en heritabilitet og fænotypisk variationskoefficient på 0,20/32,4; 0,36/35,8 og 0,38/20,2 for henholdsvis % fedt i slagtekroppen, konsistens og sensorisk bestemt mørhed af fileten. Tal

der indikerer, at der er muligheder for avlsmæssig fremgang for disse egenskaber. I senere danske undersøgelser af krydsninger mellem kødkvægsracer og malkekvægsracer (Liboriussen et al. 1977; Refsgaard Andersen et al., 2001), er der ikke fundet signifikante forskelle mellem de forskellige krydsninger med hensyn til kødkvalitetsegenskaber, ofte fordi variationen inden for den enkelte race/krydsningskombination er mindst lige så stor som mellem racer/krydsningskombinationer.

I Norge pågår der for øjeblikket en stor undersøgelse af bl.a. variationen i den Norske population af Norsk Rødt Fæ (NRF) med hensyn til mørhed og IMF. Afkom fra i alt 32 tyre er blevet testet, og det har vist sig, at det gennemsnitlige konsistenstal varierer mellem avlstyre fra 5 til 8 kg, med et gennemsnit på 6,5 kg (std. afv. = 1,9). Tilsvarende er det gennemsnitlige indhold af IMF 1,16 % (std. afv.= 0,5) (Aass et al., 2005). I denne norske undersøgelse er heritabiliteten beregnet til 0,20 og 0,70 for hhv. WBSF og IMF. Disse tal viser, at der er en stor variation i den norske population af NRF med hensyn til de undersøgte kødkvalitetsmål, og at der er en forholdsvis stor arvbarhed, som vil kunne udnyttes fremadrettet til at forbedre kødkvaliteten. Tilsvarende har Shackelford et al. (1994) i USA fundet, at heritabiliteten for WBSF og IMF i stude var henholdsvis $0,53 \pm 0,15$ og $0,93 \pm 0,02$, hvilket støtter, at selektion for mørhed og IMF er mulig. Udvælgelse af dyr med favorable gener, som koder for mere mørt kød og større fedtmarmorering vil således formentlig kunne resultere i en forbedret spisekvalitet af kødet. Her er det dog yderst væsentligt, at denne selektion ikke medfører en forringelse af dyrenes produktionsegenskaber og dermed primærproducentens økonomi, ellers vil incitamentet for forbedring af kødkvaliteten ikke være til stede.

Selektionsprogrammer er ofte designet således, at der selekteres på baggrund af forældrenes og afkommets fænotypiske egenskaber og indtil videre selekteres primært på baggrund af produktions- og slagtekvalitetsegenskaber. Et supplement til denne fremgangsmåde kan være, at undersøge om en prøve fra de levende dyr eller kød fra disse dyr indeholder den variant af et givent gen, som har en positiv effekt på kødkvaliteten. Dette udnyttes allerede i dag f.eks. i USA, Australien og Canada, hvor kommercielle tests er udviklet til at teste for specifikke DNA-markører, som har relation til mørhed og fedtmarmorering. Primærproducenter verden over kan allerede sende prøver fra deres levende dyr til disse firmaer, hvorefter firmaet analyserer prøverne og giver besked om resultatet af analysen. På sigt kan man forestille sig, at anvendelse af disse tests kan betyde en øget økonomisk gevinst for primærproducenten,

hvis/når slagteriet begynder at inddrage disse parametre i afregningen til producenten, idet disse produkter formentlig kan sælges til en højere pris, uden at det produktionsmæssigt har kostet mere at producere dyrene.

1.2. Enzymsystemer/calpainsystemet

Et af de enzymsystemer, som bidrager væsentligt til mørhedsudviklingen ved at nedbryde proteinstrukturer, er calpain systemet. Der findes forskellige isoformer af calpain, hvoraf de mest kendte er μ -calpain og m-calpain. Calpastatin er et protein, som hæmmer og regulerer aktiviteten af calpainerne, og det menes derfor at regulere graden af nedbrydning og dermed graden af mørhedsudviklingen i kødet. Calpainerne og calpastatin er lokaliseret inde i muskelfibrenes sarcoplasma, og aktiviteten af disse enzymer afhænger bl.a. af calcium koncentrationen i sarcoplasmaet.

1.3. Status på resultater fra EU-projekt (GemQual)

I perioden juli 2001 til februar 2006 var forskere fra KVL, Institut for Fødevidenskab, involveret i et større EU-forskningsprojekt med titlen ”Assessment of genetic variation in meat quality and the evaluation of the role of candidate genes in beef characteristics with a view to breeding for improved product quality (GemQual)”. Formålet med projektet var, at klarlægge variationen i kødkvalitet mellem europæiske kvægracer og at identificere de genetiske komponenter, som er bestemmende for variationen i specifikke kødkvalitetssegenskaber mellem racer. GemQual projektet skal således danne basis for, at det indenfor en årrække bliver muligt at selekttere for bestemte kødkvalitetssegenskaber, således at der kan produceres dyr med en mere ensartet og forbedret spisekvalitet.

I projektet deltog kødkvalitets- og genetikforskere fra 5 europæiske lande - England, Spanien, Italien, Frankrig og Danmark. Ialt indgik 436 ungtyre fordelt på 15 forskellige kødkvægs- og malkekvægsracer - South Devon, Skotsk Højland, Aberdeen Angus, Jersey, Simmental, RDM, SDM, Piemontese, Marchigiana, Limousin, Charolais, Casina, Avileña-Negra Iberica, Pirenaica og Asturiana de los Valles. En foderblanding bestående af byg, sojaskrå, melasse og vitamin og mineralblanding blev tilbudt *ad libitum* i hele forsøgsperioden (9-15 måneder). Byghalm blev ligeledes tilbudt *ad libitum*. Ungtyrene blev slagtet efter en standardiseret protokol ved en alder på 15 måneder, og en række forskellige kødkvalitetssegenskaber (kødfarve, mørhed, vandbindingsevne, fedtsyresammensætning, bindevævsindhold, sensorisk

bedømmelse o.s.v.) blev analyseret på muskelprøver fra fileten. Ungtyrenes genetiske baggrund blev undersøgt ud fra blodprøver.

Foreløbige data på sammenhængen mellem kandidatgener og kødkvalitetssegenskaber viser, at 5 forskellige mutationer i det gen som koder for μ -calpain (CAPN1) er relateret til ændringer i det myofibrillære fragmenteringsindeks. Det myofibrillære fragmenteringsindeks er en indikator for graden af proteolytisk nedbrydning i forbindelse med modning. Disse resultater viser således, at CAPN1 muligvis vil kunne anvendes som DNA-markør til at forbedre spisekvaliteten (mørheden) af kødet. Resultaterne viste yderligere en negativ sammenhæng mellem aktiviteten af enzymet μ -calpain og konsistensen, d.v.s. jo højere aktivitet af μ -calpain jo mere mørt kød. I Casina racen kunne 49% af variationen i WBSF forklares ud fra ændringer i μ -calpain aktiviteten, men kun 15% i Jersey, mens der ikke var nogen signifikant sammenhæng mellem μ -calpain aktiviteten og WBSF i de resterende 13 racer. Yderligere blev der fundet en positiv sammenhæng mellem aktiviteten af calpastatin og WBSF i to ud af de 15 undersøgte racer. Det blev således fundet, at 36% af variationen i WBSF kunne forklares ud fra calpastatinaktiviteten i Pirenaica og 27% i Skotsk Højland. I de resterende racer blev der ikke fundet nogen sammenhæng mellem calpastatinaktiviteten og kødets sejhed (Ertbjerg et al., 2006). Resultaterne viser, at der er væsentlige forskelle i de sammenhænge, der kan findes mellem indikatorer for kødets mørhed, alt afhængig af race.

1.4 Opsummering

Ovenstående resultater fra både nationale og internationale studier viser, at der er en stor variation i kødets kvalitet, men at der er en forholdsvis stor arvbarhed for konsistens, IMF, % fedt i slagtekroppen og sensorisk bestemt mørhed, som formentlig vil kunne udnyttes målrettet til at forbedre spisekvaliteten af kødet. Kommercielle tests benyttes idag i flere lande (Canada, USA, Australien m.fl.) til at teste for specifikke DNA-markører med relation til mørhed og fedtmarmorering. Resultatet af disse tests anvendes både på enkeltdyrniveau af landmænd til at promovere deres dyr, og inkorporeres som selektionsredskab i avlsprogrammerne (marker-assisted selection).

1.5 Formål

Formålet med denne rapport er at vurdere mulighederne for at anvende DNA-markører i den danske kvægavl til at forbedre spisekvaliteten af ungtyre- og oksekød, samt til at belyse om dette tiltag vil betyde en økonomisk gevinst for primærproducenten.

2. Definition af kødkvalitet

For kreaturkroppe og udskæringer af okse- og kalvekød anvendes en række forskellige kvalitetsbegreber. Disse begreber er opdelt i slagtekvalitet, kødkvalitet og etisk kvalitet. Indenfor hvert af disse kvalitetsbegreber er en række forskellige egenskaber, som alle bidrager til den overordnede kvalitetsopfattelse.

2.1 Slagtekvalitet

Slagtekvaliteten omfatter de kvalitetsegenskaber, som vedrører den slagtede krops sammensætning, størrelse og værdi samt slagteudbytte. Slagtekvaliteten omfatter således dyrekategori, klassificering af form, farve og fedme, slagteprocent, mængden (kvantiteten) af kød, fordelingen mellem kød og fedt i slagtekroppen samt dimensionerne af de enkelte delstykker.

2.2 Kødkvalitet

2.2.1 Teknologisk kvalitet

Teknologisk kvalitet beskriver kødets egnethed som råvare til videre forarbejdning og omfatter egenskaberne farve og tekstur af fedt, mængde af IMF (fedtmarmorering), farve og vandbindingsevne af kød, samt den kemiske sammensætning af kødet.

2.2.2 Ernærings- og sundhedsmæssig kvalitet

Ernæringsmæssig kvalitet beskriver kødets næringsværdi og omfatter indhold af fedt, protein, mineraler, vitaminer samt fedtsyresammensætning. Ved den sundhedsmæssige kvalitet fokuseres på, at kødet skal være fri for medicin- og pesticidrester, andre fremmede stoffer og fordærvende mikroorganismer.

2.2.3 Spisekvalitet

Spisekvalitet dækker over forbrugerens samlede vurdering af den oplevelse, det giver at spise et stykke tilberedt kød, og omfatter således egenskaberne smag, lugt, mørhed og saftighed. Sammen med kødets farve er spisekvaliteten af kødet blandt de egenskaber, som har størst betydning ved valg af kødtype i supermarkedet eller hos slagteren.

2.3 Etisk kvalitet

Etisk kvalitet omfatter mere holdningsprægede egenskaber, som ikke umiddelbart kan måles. Under dette begreb hører dyrets oprindelse, dyrevelfærd, produktionsforhold under opvækst, transport af dyr til slagteri, opstaldning på slagteri, aflivnings- og slagtemetode, miljømæssig belastning samt økologi aspekter.

I Danmark er afregningen for kreaturer udelukkende baseret på slagtekvalitetssegenskaberne dvs. kvantiteten af slagtekroppen, og der afregnes endnu ikke efter kødkvalitet. Kødkvalitet er dog et meget vigtigt begreb for forbrugerne, som aftager kødet. I denne rapport fokuseres således på, hvorledes det via brug af DNA-markører er muligt at forbedre kødkvaliteten af ungtyre- og oksekød uden at kompromittere slagtekvaliteten.

3. Mulige DNA-markører til forbedring af spisekvaliteten

Mutationer i gener, som koder for proteiner, der regulerer og kontrollerer fysiologiske processer i muskulaturen, vil være potentielle DNA-markører, som kan anvendes til at forbedre spisekvaliteten. Generne kaldes kandidatgener, fordi der allerede eksisterer viden om deres fysiologiske funktion. Nedenstående følger en teoretisk gennemgang af en række kandidatgener, som menes at spille en afgørende rolle for variationen i mørhed og IMF. En række kommercielle tests for mørhed og IMF er allerede udviklet og beskrives nærmere i kapitel 4.

3.1. Mørhed

Som beskrevet i kapitel 1.2 menes calpainsystemet, som består af calpainerne og protease-inhibitoren calpastatin, at spille en afgørende rolle i forbindelse med mørhedsudviklingen. Ifølge Shackelford et al. (1994), var den genetiske korrelation (r_g) mellem calpastatinaktivitet målt posttrigor og WBSF dag 9 efter slagtning 0.50 ± 0.22 . Shackelford et al. (1994) fandt en heritabilitet for calpastatin på 0.65 ± 0.19 i stude, hvilket betyder, at 65% af variationen i calpastatinaktiviteten skyldes genetiske forskelle. Dette indikerer, at calpastatin kan være en potentiel god DNA-markør for graden af sejhed i kødet.

3.1.1 CAST

Genet CAST koder for protease inhibitoren calpastatin og er lokaliseret på kromosom 7 i kvæg (Bishop et al., 1993). Barendse (2002) fandt en single nucleotid polymorphism (SNP) i CAST genet, dvs. en mutation i DNA'et som kan medfører en ændring i aminosyresammensætningen af proteinet. Ifølge Barendse (2002) blev en guanin (G) enhed erstattet af en adenin (A) enhed i 3' enden af DNA'et. Denne mutation resulterede i tre forskellige genotyper, AA, GA og GG. Ifølge Casas et al. (2006) var kød fra dyr med genotypen GG eller GA mere sejt end kød fra dyr med genotypen AA. Schenkel et al. (2006) fandt endnu en SNP i CAST genet, hvor en substitution af guanin (G) til cytosin (C) finder sted. Denne mutation resulterer i genotyperne GG, CG og CC. Ifølge Schenkel et al. (2006) var kød fra dyr med genotypen CC mere mørt end kød fra dyr med genotyperne GG og CG. Dyr med CC genotypen havde dog samtidig et mindre areal af fileten og et højere fedtindhold end dyr med GG genotypen.

3.1.2 CAPN1

Genet CAPN1 koder for enzymet μ -calpain og er lokaliseret på kromosom 29 i kvæg. Page et al. (2002; 2004) rapporterede to forskellige SNP'er i exon 9 og 14 (markør 316 og 530) på CAPN1 genet. I exon 9 erstattes guanin (G) af cytosin (C). Dette giver anledning til genotyperne CC, CG og GG. I exon 14 erstattes adenin (A) af guanin (G), hvilket giver anledning til genotyperne AA, AG og GG (Page et al., 2002; 2004). Page et al. (2004) undersøgte sammenhængen mellem forskellige markører i CAPN1 genet og mørhed i Angus, Charolais, Gelbvieh, Hereford, Limousin, Red Angus og Simmental. Ifølge Page et al. (2004) var fileten fra dyr med genotypen CC mere mør end fileten fra dyr med genotypen CG og GG (SNP 316), og fileten fra dyr med genotypen GG mere mør end fileten fra dyr med genotypen AG og AA (SNP 530). White et al. (2005) fandt endnu en markør (markør 4751) som er lokaliseret på intron 17. I denne intron erstattes thymin (T) af cytosin (C), hvilket giver anledning til genotyperne CC, CT og TT. Dyr af *Bos indicus* racer med genotypen CT havde signifikant mere mørt kød end dyr med genotypen CC og TT.

3.1.3 Myostatin

Genet MSTN koder for myostatin og er lokaliseret på kromosom 2 i kvæg (Charlier et al., 1995). Myostatin tilhører TGF β (transforming growth factor type- β) familien, og mutationer i MSTN genet foranlediger ekstrem muskeludvikling i bl.a. Belgisk Blåhvidt og Piemontese racerne. Den ekstreme muskeludvikling kaldes også "double-muscling" og skyldes muskelhyperplasi, hvorved der dannes et større antal muskelfibre. I Belgisk Blåhvidt kvæg mangler 11 basepar fra aminosyreposition 819-829 i MSTN. I Piemontese sker en substitution af cystein med tyrosin på position 938 (Fahrenkrug et al., 1999). Tre genotyper kan forekomme afhængig af hvorvidt begge former udgøres af den inaktive form af myostatin (mh) eller den normale form af myostatin (+). Ved 0 inaktive myostatin former fås genotypen +/+, 1 inaktivt myostatin allel giver anledning til genotypen mh/+ og 2 inaktive myostatin former giver genotypen mh/mh. Genotypen +/+ resulterer i dyr med normal muskulatur. Genotypen mh/+ resulterer i "heavy muscling" og genotypen mh/mh forårsager "double-muscling". Dyr som indeholder den variant af MSTN genet som giver "double-muscling" har ca. 20% større muskelmasse og er derfor attraktive ud fra en produktionsøkonomisk synsvinkel. Ifølge Keele og Fahrenkrug (2001) har dyr med genotypen mh/+ eller mh/mh øget muskularitet, øget kødudbytte, reduceret fedtindhold og forbedret effektivitet af muskelvækst. Wheeler et al. (2001) fandt, at mørhed og mængden af bindevæv var signifikant

højere for dyr af Piemontese racen med genotypen mh/+ og mh/mh end for dyr med genotypen +/+ i filet, inderlår, yderlår og tykstek. Dog blev der i dette studie fundet muskelforskelle, idet yderlåret fra dyr med mh/mh genotypen var signifikant mere mørt, havde højere myofibrillært fragmenteringsindeks og mere bindevæv end dyr med genotypen mh/+.

3.2. Intramuskulært fedt

Genetiske markører for IMF indhold og fedtmarmorering er rapporteret i kvæg og er lokaliseret på tre forskellige kromosomer, BTA4 (bovint kromosom 4), BTA5 og BTA14. På BTA5 findes DNA markørerne CSSM34 og ETH10 og på BTA14 findes CSSM66, som er associeret med fedtmarmoreringsgraden i racerne Angus, Shorthorn og Wagyu (Barendse, 1997). På BTA4 findes genet leptin (Pomp et al., 1997) og på BTA14 findes generne DGAT1 (diacylglycerol-O-acyltransferase 1) og TG (thyreoglobulin).

3.2.1 Leptin

Leptin-genet er lokaliseret på kromosom 4. Genet leptin koder for proteinet leptin (Houseknecht et al., 1998), som er et hormon, der udskilles fra fedtceller i fedtvævet og transporteres via blodet til bl.a. hjernen (Banks et al., 1996). Leptin transporteres bundet til specifikke proteiner i serum, som muligvis regulerer halveringstiden og den biologiske aktivitet af leptin. Leptin menes at regulere appetit, energibalance og kropssammensætning ved at stimulere eller inhibere produktion af forskellige faktorer, som påvirker foderoptagelse, energiforbrug og fysisk aktivitet. Levin et al. (1996) viste, at behandling med leptin nedsatte foderoptagelse, reducerede kropsvægten og fedtdepoterne og øgede energiomsætningen. Ifølge Chen et al. (1996) kan leptin behandling anvendes til at reducere alt synligt fedt i gnavere. Ifølge Cusin et al. (1996) resulterede faste i 12 til 48 timer i en hurtig nedregulering af leptinekspressionen. Cortisol og insulin stimulerer leptinekspression, medens ekspressionen svækkes af β -adrenerge agonister og cAMP. Udskillelse af hormonet leptin vil via en negativ feedback proces bevirke en reduktion i ekspressionen af leptin genet.

Leptin er i en række undersøgelser blevet kædet sammen med fedtmetabolismen, bl.a. fandt Geary et al. (2003) en positiv korrelation mellem serum leptin og "Marbling Score" (et mål for IMF på en skala fra 1 til 28, hvor 1 er fravær af IMF og 28 er meget IMF), fedt tykkelse

og nyre, nyretalg og hjertefedt. Undersøgelsen blev gennemført i to grupper af dyr (Angus krydsninger og Limousin, Hereford og Piedmontese krydsninger). Den første gruppe bestod udelukkende af stude, hvorimod den anden gruppe bestod både af stude og kvier. Problemet med at måle leptin i blodet er, at det afhænger noget af tid på dagen, og der ser ud til at være niveauforskelle mellem forskellige grupper af dyr. Samtidig var der ikke forskelle i leptinniveauet mellem stude og kvier, men der var forskelle i Marbling Score. Alt i alt vil serum leptin være vanskeligt at tolke i praksis, som en mulig fysiologisk indikator til at sortere dyr for f.eks. fedningsgrad.

Indenfor de sidste 10 år har leptin genet været betragtet som et kandidatgen for vækst, slagte- og kødkvalitet i kvæg (Fitzsimmons et al., 1998; Buchanan et al., 2002; Lagonigro et al., 2003). Adskillige SNP'er med sammenhæng til slagte- og kødkvalitetssegenskaber er rapporteret i kvæg (Buchanan et al., 2002; Lagonigro et al., 2003; Nkrumah et al., 2004; 2005). Genet som koder for leptin kan på en bestemt plads have enten cytosin (C), hvilket resulterer i produktion af "normal" leptin eller thymin (T), som resulterer i en ændring af aminosyresekvensen af leptin. Denne ændring fra C til T bevirker, at leptin ikke genkendes i samme grad af leptinreceptorerne i hjernen, således at reguleringen af appetit og metabolisme sættes ud af kraft eller svækkes. CT og TT genotyperne medfører derfor en mindre nedregulering af appetitten, så disse dyr æder mere, bliver federe og får mere IMF. Schenkel et al. (2005) undersøgte sammenhængen mellem 5 forskellige mutationer i leptingenet (E2FB, E2JW, UASMS1, UASMS2, UASMS3) og forskellige slagte- og kødkvalitetssegenskaber i kreaturer fra Angus, Hereford, Charolais og Simmental racerne og fandt 2 SNP associeret med fedt og kødmængde (E2JW, $P < 0.01$; E2FB, $P < 0.05$), medens de vekselvirkede i deres effekt på mørhed ($P < 0.01$).

3.2.2 Thyreoglobulin (TG)

Thyreoglobulin genet koder for glycoproteinet thyreoglobulin (TG), som syntetiseres i skjoldbruskkirtlen (*gld. threoidea*). Sammen med jod optaget fra blodet medvirker TG i syntesen af thyreoideahormonerne thyroxin (tetraiodthyronin, T_4) og trijodthyronin (T_3) (for yderligere information se Warberg, 1991). TG binder f.eks. jodet og er således direkte involveret i dannelsen af de to hormoner. T_4 og T_3 er modificerede aminosyrer, som kun adskiller sig fra hinanden ved at T_4 indeholder 4 jodatomer og T_3 indeholder 3 jodatomer pr. molekyle (Warberg, 1991). Efter syntese lagres T_4 og T_3 i skjoldbruskkirtlen bundet til TG.

Hormonerne frigøres fra TG v.h.a. lysosomale proteolytiske enzymer (lysozymer), som bryder peptidbindingen mellem TG og T₄ eller T₃. Thyreoideahormonerne påvirker en lang række metaboliske processer i organismen (f.eks. protein-, kulhydrat- og fedtstofskiftet). Thyreoideahormonerne menes at være involveret i differentiering og vækst af fedtceller (Ailhaud et al., 1992), og niveauerne af T₄ og T₃ er relateret til aflejringen af IMF i Wagyu racen (Mears et al., 2001). Genet som koder for TG er lokaliseret tæt ved DNA markøren CSSM66 på BTA14 (Barendse, 1997). Ifølge Barendse (1997) korrelerede TG gen et signifikant med fedtmarmoringsgraden. Barendse et al. (2001) identificerede en mutation i 5'untranslated region (5'UTR) af TG, som var korreleret med fedtmarmorering i racerne Angus og Shorthorn. Frekvensen af det favorable form (T) var højere i dyr med meget fedtmarmorering end i dyr med lav fedtmarmoringsgrad (ikke favorable form, C). I overensstemmelse med dette fandt Thaller et al. (2003), at dyr fra racerne tysk Holstein og Charolais med genotypen TT havde signifikant mere IMF i fileten end dyr med genotypen CT eller CC. Denne sammenhæng kunne dog ikke påvises i lårtungen. Casas et al. (2005), fandt derimod ingen sammenhæng mellem mutationer i TG og graden af fedtmarmorering i *Bos indicus* racer.

3.2.3 DGAT1

DGAT1 koder for proteinet diacylglycerol O-acyltransferase (DGAT, EC 2.3.1.20), som er et enzym, der spiller en afgørende rolle i fedtstofskiftet. DGAT1 katalyserer det endelige trin i syntesen af triglycerider (Cases et al., 1998). Syntesen af triglycerid i fedtceller er den vigtigste måde at opbevare energi på. Thaller et al. (2003), fandt en sammenhæng mellem en lysin/alanin mutation i DGAT1 og IMF i lårtungen, men ikke i fileten i tysk Holstein og Charolais. Effekten af lysin mutationen er recisiv og homozygote lysin/lysin (DGAT1) tysk Holstein har signifikant mere IMF i både lårtungen og i fileten end heterozygote lysin/alanin og homozygote alanin/alanin dyr. Når lysin/lysin homozygote dyr har mere IMF kan det skyldes, at en lysin enhed medfører en mere effektiv binding af acyl-coenzym A end en alanin enhed (Winter et al., 2002). Casas et al. (2005) fandt derimod ingen sammenhæng mellem mutationer i DGAT1 og graden af fedtmarmorering i *Bos indicus* racer.

4. Eksisterende gentests

4.1 Hvad testes der for?

Der eksisterer i øjeblikket to firmaer hhv. Merial og Genetic Solutions, der gennemfører gentest vedr. kødkvalitetssegenskaber på kødproducerende dyr. Der testes dels for indikatorer for fedtmarmorering dels for mørhed. Testene er relateret til hhv. test for leptin genotype eller thyreoglobulin genotype (fedtmarmorering) og test for genotype af enzymer i calpainsystemet (mørhed).

4.1.1 Merial

”Igenity L” testen undersøger genotypen af leptin. Testen undersøger formen af én SNP (E2FB), hvor der enten optræder cytosin (C) eller thymin (T). Dyr med genotypen L-cc vil have et lavere foderindtag, producere mere magert kød og en tendens til større muskelareal i modsætning til dyr af genotypen L-tt, der vil have et større foderindtag, højere tilvækst og øget fedtdeponering. Dyr med L-ct genotypen har en produktion midt imellem de to homozygote genotyper.

”Igenity TenderGENE” tester genotypen for to SNP på CAPN1 (SNP 316 og SNP 4751) og én SNP på CAST (SNP UoG-CAST1) (http://us.igenity.com/igenity_beef_tender.html). Den bedste genetiske kombination af disse 3 SNP kan forbedre shear force med op til 1.0 kg i forhold til dyr med den dårligste kombination. Dyrene tildeles en score fra 1 til 10, hvor det angives, at der er en forskel på ca. 1 kg i shear force mellem 1 og 10, hvor 10 er det bedste. Dette vil øge andelen af forbrugere, der opfatter kødet som mørt med 21 % (Igenity beef results key Code 06.104).

4.1.2 GeneSTAR®

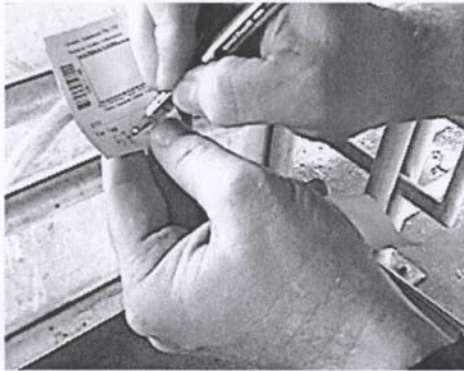
”Tenderness 4” – tester genotypen for fire SNP indenfor calpainsystemet – Calpastatin T1, Calpain 316-T2, Calpain 4751-T3 og Calpain (anonym)-T4. Testen undersøger om dyret har ”møre” eller ”seje” former af de fire markører, og resultatet af testen er, at dyret modtager fra 0 til 8 stjerner. De fire markører er indbyrdes uafhængige, og derfor er deres betydning for mørhed tilnærmelsesvis additiv. GeneSTAR® angiver, at den positive form af Calpastatin markøren vil betyde en nedgang i shear force på 0,45 kg. For Calpain-T2 og Calpain-T3 markørerne vil man opnå et fald i shear force på 0,45 kg for hver, men de er ikke fuldstændig

uafhængige, således at de samlet giver et fald i shear force på 0,68 kg. Der er endnu ingen angivelser af effekten af Calpain-T4. Samlet giver den rette kombination af de tre markører T1, T2 og T3 et fald i shear force på 1,1 kg (<http://www.bovigen.com/tenderness.htm>). Den private forbruger vil kunne observere en forskel i shear force på ca. 1 kg. Effekten af at øge andelen af ”positive” former af mørhedsmarkører, skal ikke kun vurderes ud fra det gennemsnitlige fald i WBSF, men også ud fra andelen af kød fra dyr der vil blive registreret som sejt. Og her er der en tydelig effekt – jo flere ”positive” former des færre seje prøver. Her kan andelen mindskes fra 22 % (WBSF > 6 kg) til ca. 2 %, hvis antallet af positive former ændres fra 0 til 8 (GeneSTAR[®]).

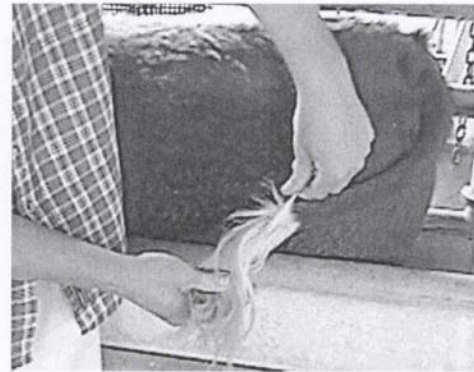
”Marbling 3” – testen undersøger genotypen af 3 markører (SNP) – Thyreoglobulin mutation i 5’untranslated region, og to markører M2 og M3, hvor mutationerne er anonyme. Testen undersøger om dyret har 0, 1 eller 2 positive IMF former for hver markør, som resulterer i fra 0 til 6 stjerner. Markørerne er uafhængige, og derfor er deres betydning for IMF additiv. I det amerikanske klassificeringssystem indgår ”Quality Grade”, hvor slagtekroppene klassificeres for mængden af IMF, under hensyntagen til alderskategori. Der findes 4 niveauer, hhv. Prime, Choice, Select og Standard, hvor Prime kendetegner mest IMF og Standard mindst IMF. Effekten af udnyttelsen af Marbling 3 markøren viser sig ved andelen af dyr, der bliver klassificeret i den Amerikanske Choice kategori. Ved at gå fra 0 positive former til 4 positive former i to markører øges andelen af dyr som klassificeres i Choice fra 0 til 22,9 % (http://www.bovigen.com/quality_grade.htm). Prisdifferensen mellem Choice og Select er ca. 1,3 kr pr kg (http://www.ams.usda.gov/mnreports/_ct155.txt).

4.2 Metoder

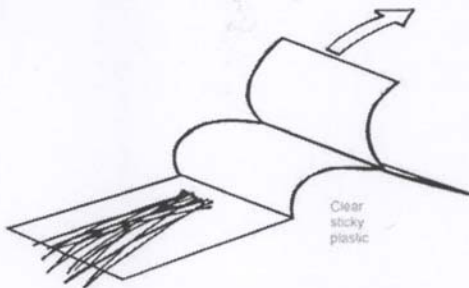
Genotypen af et dyr kan bestemmes ud fra en prøve af blod, sæd, mælk eller hår. I de forskellige kommercielle tests anbefales brugen af hår, fordi det er det nemmeste materiale for kødproducenten at håndtere. Firmaerne, der udbyder gentests fremsender emballage til at indsamle hår, inkl. hårsække, som kvægbrugeren herefter returnerer til firmaet (figur 1).



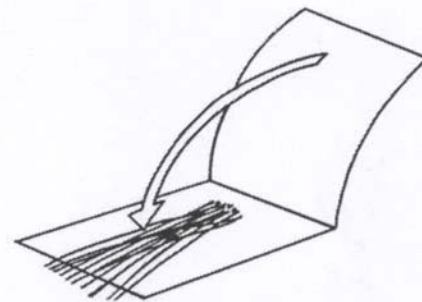
1. Verify and write the eartag number on the hair sample collector in the space provided.



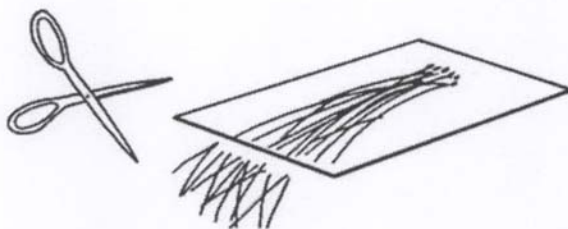
2. While holding the end of the tail switch, pull a pencil thickness tuft of hair (15-20 hairs) from the switch making sure the hair roots are attached. Pull the hair "up & away" to get as many roots as possible.



3. Open the hair sample collector fully, as you would to bend back the spine of a book. Place the hair on the back of the printed flap of the collector as shown above, with the roots close to the joined end. Peel off the backing paper, starting from the joined end, to expose the sticky backing of the other flap.



4. Press the sticky plastic side down on the top of the hair. Make sure the edges of the plastic are sealed around the collector.



5. Trim the excess hair to the edges of the sample collector. Place the collectors in bundles of 10-15 in a ziploc bag. Complete the Sample Information Sheet with the animal information and collector barcode number.

Figur 1. Procedure fremstillet af *GeneSTAR*[®] til udtagning af hårprøve (www.bovigen.com). Denne hårprøve fremsendes til et laboratorium, som tester for forskellige DNA-markører.

Hos firmaernes laboratorier oprenses DNA fra hårrødderne, som derefter via genteknologiske metoder, opformeres og aminosyresekvensen bestemmes, hvorved genotypen kan bestemmes for det enkelte dyr. Resultaterne præsenteres som genotypen f.eks. L-cc, L-ct el. L-tt, hvis prøverne er sendt til Merial for genotypning for leptin, og man vil derved få et udtryk for, om dyret producerer den ”normale”/”wild-type” leptin (L-cc), der koder for normal appetitregulering, eller om dyret producerer leptin af formen (L-tt), der ikke genkendes i samme grad af leptin-receptorerne i hjernen, og derfor ikke har samme appetitregulerende effekt. Merial angiver, at man i Canada, USA, England og Irland kan forvente svar inden for 10 arbejdsdage – ved fremsendelse fra Danmark må så forventes lidt længere tid. Hvis prøverne er sendt til GeneSTAR, vil dyret blive genotypebestemt, og derudover vil dyret få tildelt et vist antal stjerner, for hhv. mørhed fra 0 til 8, hvor 8 er det mest møre kød, og tilsvarende for marmorering fra 0 til 6 stjerner, hvor 6 stjerner er størst marmoreringsgrad.

4.3 Økonomi

For test hos GeneSTAR er det firmaet Vétô-pharma, som i Europa modtager prøverne fra kvægbrugeren. De oprenser DNA, som derefter sendes til Australien, hvor selve genotypningen foregår. Prisen afhænger selvfølgelig af antallet af indsendte prøver, men for test af både Tenderness 4 og Marbling 3 ligger prisen i intervallet fra 115 € (850 kr) pr prøve ved under 25 prøver til 83 € (625 kr) pr prøve ved over 500 prøver.

Merial tilbyder tilsvarende at teste for genotyperne hos kvæg i Danmark. De har et laboratorium i England. Prisen afhænger også her af antallet af prøver, således at et kit til 10 prøver koster 300£ (ca. 330 kr/prøve) og ved et kit til 50 prøver koster det 1000£ (ca. 220 kr/prøve). Resultaterne forventes af være fremme efter ca. 2 uger.

4.4 Evaluering af kommercielle gentests

En række uafhængige studier er gennemført på forskellige kvægpopulationer, for at undersøge frekvens og effekt af SNP'er som indgår i de kommercielle test. I appendiks 1 er de fundne frekvenser angivet for de refererede forsøg, som diskuteres herunder.

4.4.1 Mørhed

CAPN1:

Cullen et al. (2005) undersøgte i alt 193 Hereford-Friesian krydsninger (167 kvier og 26 stude) og 117 rene Angus (59 tyre og 58 kvier) for frekvensen af forskellige genotyper af Calpain 316 sammenholdt med WBSF. Samtidig blev kød fra filet'en fra de enkelte dyr delt i 6 og modnet i forskellige perioder fra 0 til 28 dage post rigor (Hereford krydsninger) og 0 til 7 dage post rigor (Angus). Resultaterne viste, at der er en markant forskel i frekvensen af de tre genotyper CC, CG og GG mellem de to racer. Der er ingen synlig forskel mellem kønnene, og der er en sammenhæng til WBSF, når det er kødprøver, der har modnet fra 1 til 14 dage (Hereford krydsninger) eller 1 til 2 dage (Angus), men efter lang tids modning (28 dage – Hereford krydsninger; 7 dage – Angus) forsvinder sammenhængen. Der er tale om en ca. 10 % reduktion i WBSF mellem GG og CG genotyperne for Hereford-krydsninger og mellem CG og CC genotyperne for Angus. Forklaringen på, at der kun ses forskelle mellem genotyperne efter en vis modningsperiode, stemmer godt overens med virkningen af calpain, som netop katalyserer proteolysen af de myofibrillære proteiner i musklerne, og det må forventes, at der skal ske en vis proteolyse, før det kan måles som en forskel i WBSF. Tilsvarende er det også forventeligt, at forskellene forsvinder efter en lang modningsperiode, i det det tyder på, at selv den ”negative” form af calpain-formen (G) katalyserer proteolyse, men bare ikke med samme effekt / hastighed. Så hvis kødet fra genotyper med den ”negative” calpain-form får lov til at modne længe nok, vil det opnå samme mørhed, som kød fra genotyperne med den ”positive” form. Frekvensen af den ”positive” form af markør 316 varierer mellem forskellige racer, men den er fundet i amerikanske tyre af racerne Angus (59 %), Charolais (5%), Gelbvieh (0 %), Hereford (6%), Limousine (8 %), Rød angus (19 %), Simmental (11 %), Angus x Simmental (14 %) (Page et al., 2004). Det må forventes, at det samme billede kan findes i de danske kvægracer, hvilket betyder, at det er muligt at selektere for den positive form af Calpain 316, og derved opnå en forbedret mørhed, samt mindre variation mellem enkelt dyr.

White et al. (2005) fandt, at markøren Calpain 4751-T3 (SNP på intron 17 T versus C) kan forbedre WBSF med 0,25 – 0,5 kg, hvis genotypen er C i forhold til T. Med en forbedring på 0,25 – 0,50 kg i WBSF vil selektion for denne markør alene dog ikke umiddelbart kunne registreres af den enkelte forbruger.

Ved at benytte både markøren Calpain 316-T2 og markøren Calpain 4751-T3 kan effekten på WBSF øges, men effekten på WBSF er ikke uafhængige, således at effekten ikke er fuldstændig additiv. White et al. (2005) fandt en forskel i WBSF på 0,56 kg mellem dyr, der er homozygote på både markør 316 og 4751 (GG TT) sammenlignet med homozygote ”positive” former (CC CC).

CAST:

Frekvensen af C formen blev i to amerikanske populationer af kødkvægskrydsninger fundet til at være hhv. 19,8 og 16,7 % (Casas et al., 2006). Denne mutation svarer til det, der testes af GeneSTAR. Kød fra dyr, som havde genotypen CC eller CT var mere sejt end kød fra genotype TT både bestemt ved WBSF og sensorisk panel, hhv +0,3 til 0,5 kg og -0,2 til 0,3 sensorisk score (Casas et al., 2006). I samme forsøg blev også vekselvirkningen mellem CAST markøren og Calpain 4751 markøren undersøgt, i det det kunne forventes, at effekten af de to markører ikke er uafhængige, da effekten af calpastatin virker gennem μ -calpain. Men der blev ikke fundet nogen sammenhæng, hvorfor forfatterne konkluderer, at effekten af de to markører er additiv. Endelig blev effekten af de to markører på saftighed og smag undersøgt, men der blev ikke fundet nogen sammenhæng mellem den enkelte genotype og saftighed eller smag (Casas et al. 2006).

Den SNP, der testes i Igenity tenderGENE, er en Guanin (G) til Cytosin (C) ændring. I Schenkel et al. (2006) beskrives effekten af en tilsvarende substitution i calpastatin genet, der kunne således være tale om den samme. Resultatet af substitutionen er af Schenkel et al. (2006) fundet til en reduktion i WBSF på 0,32 kg \pm 0.13 ved at gå fra den ene homozygot (GG) til den anden (CC). Heterozygoten ligger i mellem. Selektion for denne markør alene, vil derfor ikke forventes at kunne registreres af den enkelte forbruger.

4.4.1.1 Opsummering

Litteraturen bekræfter en positiv gevinst ved at anvende GeneSTAR tenderness 4 eller Igenity tenderGENE testen til at forbedre mørheden. Effekterne af de enkelte markører viser endvidere, at for at der skal være en effekt, der kan registreres af den enkelte forbruger, skal flere markører, hvis effekt er tilnærmelsesvis additiv, inddrages. Det er dog svært at ”oversætte” de opnåede forbedringer på mørheden, da der er anvendt forskellige metoder (temperatur, udstyr mv.) til at bestemme mørheden i de refererede undersøgelser i forhold til

danske undersøgelser. Med de resultater der foreligger i litteraturen er det derfor ikke muligt at definere den konkrete gevinst i forbedret mørhed. Resultaterne er opsummeret i Appendiks 1.

4.4.2 Marmorering

Merial udbyder testen Igenity L, som undersøger leptin genotypen af dyrene. Nkrumah et al. (2004) og Schenkel et al. (2005) har undersøgt sammenhængen mellem leptin genotype og fedningsgrad og mængde af IMF. I begge undersøgelser er der fundet en positiv sammenhæng mellem TT-genotypen og fedttykkelse over filet, og negativ sammenhæng med kødudbytte, men ingen sammenhænge til Marbling Score eller kemisk bestemt fedtindhold. I Schenkel et al. (2005) viste det sig, at der var en vekselvirkning mellem to SNP'er i leptin genet (E2FB – som er den SNP der bliver undersøgt i Igenity L testen, og E2JW (Lagonigro et al., 2003), som havde indflydelse på WBSF resultatet. Litteraturen er derfor ikke særlig overbevisende mht. at bruge den SNP, som anvendes i Igenity L testen, til at bestemme fedtmarmorering. Testen synes at kunne prædiktere graden af subkutan fedt og kødudbyttet, og kan således anvendes til at bestemme genetiske anlæg for fedttykkelse og forventet kødudbytte, men der er ikke dokumenteret sammenhænge til IMF eller muskelareal, ud over de resultater der er at finde på Igenity L's hjemmeside (http://uk.igenity.com/igenity_beef3.html). Her fremgår det ikke, i hvilken population m.v. resultaterne stammer fra.

Genetic Solutions gentest for IMF "GeneSTAR Marbling" undersøger en SNP i thyreoglobulin genet kaldet Tg5. Sammenhængen mellem Tg5 SNP og mængden af IMF og klassificering for Quality grade/ Marbling Score er bekræftet af 1) Barendse et al. (2001) på 1750 stude samlet fra en feedlot, der modtog dyr fra 411 sælgere. Studene var hovedsagelig Angus, Shorthorn eller krydsninger, som var slutfedet i 160 – 240 dage. 2) Genetic Solutions (2002) på 1066 stude, som var slutfedet i feedlot i 122 – 220 dage og slagtet ved 422 – 604 kg, og af 3) Genetic Solutions (2003) i en undersøgelse af Japanese Black Wagyu kvæg. I modsætning til disse resultater kunne Rincker et al. (2006) ikke bekræfte nogen sammenhæng mellem GeneSTAR marbling markør og hverken marbling Score eller % IMF, i en undersøgelse af 192 tidligt fravænnede Simmental stude.

4.4.2.1 Opsummering

Ovenstående resultater viser, at race formodentlig har betydning for de fundne sammenhænge – hvilket kan hænge sammen med forskelle i racernes fysiologiske udvikling (modenhed) - og derudover har management betydning: hvornår begynder slutfedning, hvor lang periode foregår den over, og hvilke foderemner anvendes. Endelig er det værd at bemærke, at der kun er fundet sammenhænge til quality grade/marbling score og ikke % IMF, hvorfor relationerne til begrebet % IMF kan være svære at overføre til danske forhold. Resultaterne er opsummeret i Appendiks 1.

Resultaterne mht. de to tests, der er på markedet til at genotype for marmorering, er ikke særligt overbevisende. Der synes at være store forskelle i testenes værdi alt afhængig af race, management og kriterium for vurdering af marmorering. Værdien af testene bør således undersøges i den danske kvægpopulation ud fra de kriterier, der efterspørges af det danske detailed mht. marmorering og fedningsgrad.

5. Vurdering af relevans under danske forhold

5.1 Variation i kødkvalitet

Resultater fra GemQual projektet viser, at variationen i sejhed indenfor hver af racerne SDM, RDM og Simmental målt v.h.a. en objektiv målemetode (WBSF) er henholdsvis 43-84 N (WB 2d), 36-80 N (WB 10d); 37-98 N (WB 2d), 34-75 N (WB 10d); 58-122 N (WB 2d), 42-110 N (WB 10d). De sejeste Simmental var således 20 –30 % sejere end RDM/SDM.

I projektet Store Ungtyre til hjemmemarkedet blev mørheden og konsistensen undersøgt af 23 unglyre på 11 måneder, 45 unglyre på 14-19 måneder og 23 malkekøer, alle SDM. I denne undersøgelse blev der også fundet en meget stor variation i konsistens, hhv. 73-189 N (11 måneder) 45–232 N (14-19 måneder) og 46-134 N (malkekøer) og i sensorisk bedømmelse med trænet panel, hhv. 4,8-12,6 (11 måneder), 3,7-13,3 (14 - 19 måneder) og 5,5-12,7 (malkekøer) på ustruktureret skala fra 0 til 15, uafhængig af hvilken kategori af dyr der var tale om. Mængden af IMF varierede også mellem dyr og mellem kategorier af dyr, hhv. 0,6-2,0 % (11 måneder), 1,0-4,8 % (14-19 måneder) og 1,5-7,0 % (malkekøer) (Clausen et al. 2004).

Mellem enkelte muskler kan der også være store forskelle både med hensyn til mørhed og mængden af IMF (Vestergaard et al. 2000; Hansen et al., 2006). I de fleste undersøgelser af effekten af genotyper og sammenhænge til kødkvalitet er det udelukkende effekten på fileten, som er undersøgt. Dette er uheldigt, da bl.a. mørheden af fileten er en mindre god indikator for resten af slagtekoppens mørhed (Shackelford et al., 1995; Simões et al., 2005).

Ovenstående resultater skal blot illustrere, at der tilsyneladende er en stor variation i den danske population af kvæg, hvad angår kødkvalitetssegenskaber, og at der således er et potentiale for forbedring. Valideringen af de kommercielle tests indikerer, at der er muligheder for at forbedre mørheden og evt. ændre på mængden af IMF, ved at genteste avlsdyr og der igennem øge frekvensen af favorable former gennem avl.

5.2 Afregning

I Danmark findes der endnu ingen afregning for kødkvalitetssegenskaber, som man f.eks. kender det for det amerikanske Quality Grade system, der præmierer mængden af IMF. Værdien af at forbedre kødkvalitetssegenskaber i danske populationer er derfor meget svær at fastlægge. Selv om der ikke præmieres direkte for kødkvalitetssegenskaber, findes der dog brands, der baseres på kødkvalitetssegenskaber. Dvs. at de forbedringer, man evt. opnår gennem fokus på genotyper, vil kunne bruges til at brande produkter. Derudover vil en forbedring af mørheden kunne resultere i, at modningstiden kan afkortes, hvilket betyder en hurtigere omsætning af kødprodukterne, og dermed en økonomisk gevinst for detailed/slagterier og dermed forhåbentlig også primærproducenten.

De udfordringer der ligger i at implementere ovenstående kommercielle tests i dansk kvægbrug ligger i at fremskaffe resultater, der dokumenterer effekten i Danmark, og opstille nogle mål for god kødkvalitet. Dette er specielt relevant for IMF, som er en kontroversiel kvalitetsegenskab, hvor der findes mange holdninger til, hvad der er godt og dårligt – skal det være magert kød eller god spisekvalitet?

6. anbefalinger

Ud fra gennemgang af eksisterende litteratur omhandlende anvendelse af DNA-markører til bestemmelse af kødkvalitet fremgår det, at der på nuværende tidspunkt er to firmaer, som har udviklet gentests på basis af kandidatgenerne leptin og thyreoglobulin for fedtmarmorering samt calpain (CAPN1) og calpastatin (CAST) for mørhed. Udfra prøver taget på det levende dyr er disse firmaer i stand til at kategorisere dyrene m.h.t. de to egenskaber og således sende meddelelse om resultatet tilbage til primærproducenten. Spørgsmålet er om allerede eksisterende gentests vil kunne anvendes til at kategorisere dyr fra danske kvægracer? Oplysningerne, som bliver tilgængelige ved gentestene, vil kunne bruges i avlen sammen med allerede tilgængelige avlsredskaber, og derved sikre at der ikke sættes tyre i avl, hvis genetiske potentiale for kødkvalitet er negativt.

Inden gentests til bestemmelse af fedtmarmoreringsgrad og mørhed tages i brug på danske racer anbefaler vi, at der igangsættes en undersøgelse af, hvorvidt gentestene kan benyttes til at differentiere dyr indenfor og mellem danske racer med hensyn til de to kvalitetsegenskaber. Dette vil naturligvis afhænge af genotypefrekvensen af den pågældende mutation (SNP) i den danske kvægpopulation, samt variationen i de fænotypiske egenskaber indenfor og mellem racer. Det er tænkeligt, at der vil være en bedre sammenhæng mellem gentestene og kødkvalitetsegenskaberne i nogle danske racer frem for andre, og at værdien af gentestene kan være afhængig af, hvilken muskel kødkvalitetsmålingerne foretages på.

6.1 Fremtidig indsats

Adskillelige danske racer kunne være interessante at inddrage i forsøg f.eks. kødkvægracerne Limousin, Angus og Simmental, men også malkekvægracerne Jersey, RDM og SDM. Vi foreslår, at man i første omgang fokuserer på Limousin og Simmental, som har velfungerende avlsprogrammer. Dette muliggør adgang til et rimeligt stort dyremateriale, hvorpå der allerede foreligger information om produktionsresultater (f.eks. tilvækst, foderudnyttelse o.lign.), og desuden adgang til klassificeringsresultater for afkom. Samtidig vil der være adgang til blod- eller sædprøver fra individafprøvede ungtyre, som vil muliggøre en screening af DNA for om muligt at detektere mutationer (SNP'er) i forskellige gener. Udfra dette dyremateriale vil man kunne udvælge et mindre antal afkom, hvorpå der udføres kødkvalitetsmålinger på udvalgte muskler.

Derudover foreslår vi, at et allerede tilgængeligt materiale fra malkeracerne udnyttes, for at undersøge frekvensen af SNP'er og sammenhængen til spisekvalitetssegenskaber. I 90'erne gennemgik et stort antal ungtyre af racerne SDM, RDM og DRK individafprøvning. En række af dem blev sendt direkte til slagtning efter individafprøvning, da de ikke blev vurderet egnede til videre avl. Blandt de ungtyre, der blev sendt til slagtning, blev der udtaget prøver til overvågning af slagtekroppens kvalitet. Disse undersøgelser blev gennemført af Slagteriernes Forskningsinstitut (Bang & Oksama, 1998; Bligaard, 2002). Der findes muligvis blod af disse ungtyre i blodbanken. Det vil muliggøre, at disse tyre kunne screenes for SNP'er fra ovennævnte kommercielle test og kobles med allerede gennemførte analyser af kødkvalitetssegenskaber (IMF, farve, konsistens). En sådan undersøgelse vil give en indikation af frekvensen af de specifikke gener og sammenhængen til kødkvalitet i danske populationer, og om vi kan forvente at opnå en tilfredsstillende forklaringsgrad af den variation, der ses i kødkvalitetssegenskaber i danske populationer.

Fokusområder for fremtidig indsats:

Der er behov for at udføre forsøg på danske kvægracer, som kan besvare følgende spørgsmål:

Er værdien af gentests afhængig af, hvilken muskel der anvendes?

Er værdien af gentests afhængig af, hvilken race der anvendes?

Hvis gentests anvendes til at differentiere kød, kan forbedringen af spisekvaliteten så registreres/måles både objektivt og subjektivt?

Litteraturliste

Aass, L., Hildrum, K. I., Hollung, K., Veiseth, E., & Lien, S. (2005): Genetic causes of variation in beef tenderness - preliminary results. *51st International Congress of Meat Science and Technology*.

Ailhaud, G., Grimaldi, P. & Negrel, R. (1992): Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annual Reviews of Nutrition*, **12**, 207-233.

Bang, H., & Oksama, M. (1998): Fraselektrede individafprøvede tyres slagte- og kødkvalitet. Raceudvikling 1990-1997. Afkomsgrupper 1995-1997. Rapport, Slagteriernes Forskningsinstitut, Ref. Nr. 01.686/08.

Banks, W.A., Kastin, A.J., Huang, W., Jaspan, J.B., & Maness, L.M. (1996): Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides*, **17**, 305-311.

Barendse, W. (1997): Assessing lipid metabolism. Patent, International Publication number: WO 99/23248. World International Property Organization. Tilgængelig via <http://ep.espacenet.com>

Barendse, W., Bunch, R., Thomas, M., Armitage, S., Baud, S. & Donaldson, N. (2001): The TG5 DNA marker test for marbling capacity in Australian feedlot cattle. Available: www.beef.crc.org.au/Publications/MarblingSym/Day1/Tg5DNA.

Barendse, W. (2002): DNA markers for meat tenderness. Patent, International Publication number: WO 02064820. World International Property Organization. Tilgængelig via <http://ep.espacenet.com>

Bech Andersen, B., Lykke, T., Kousgaard, K., Buchter, L., & Wismer-Pedersen, J. (1977): Growth, feed utilization, carcass quality and meat quality in Danish dual-purpose cattle. 453. Beretning fra Statens Husdyrbrugsforsøg. 86 pp.

Bishop, M.D., Koohmaraie, M., Killefer, J., & Kappes, S. (1993): Rapid communication: Restriction fragment length polymorphisms in the bovine calpastatin gene. *Journal of Animal Science*, **71**, 2277.

Bligaard, H. B. (2002): Kvalitetsopfølgning hos individafprøvede ungtyre. Slagte- og kødkvalitet 1999-2001. Rapport, Slagteriernes Forskningsinstitut, Ref. Nr. 17262.

Buchanan, F.C., Fitzsimmons, C.J., Van Kessel, A.G., Thue, T.D., Sim, D.C.W. & Schmutz, S.M. (2002): Association of a missence mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet. Sel. Evol.*, **34**, 105-116.

Casas, E., White, S.N., Riley, D.G., Smith, T.P.L., Brenneman, R.A., Olson, T.A., Johnson, D.D., Coleman, S.W., Bennett, G.L., & Chase, C.C. Jr. (2005): Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosome 14 and 29 for association with carcass composition in *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, **83**, 13-19.

Casas, E., White, S.N., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Riley, D.G., Chase, C.C. Jr, Johnson, D.D., & Smith, T.P.L. (2006): Effects of *calpastatin* and μ -*calpain* markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*, **84**, 520-525.

Cases, S., Smith, S.J., Zheng, Y.-W., Myers, H.M., Lear, S.R., Sande, E., Novak, S., Collins, C., Welch, C.B., Lusic, A.J., Erickson, S.K. & Farese, R.V. (1998): Identification of a gene encoding an acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**, 13018-13023.

Charlier, C., Coppieters, W., Farnir, F., Grobet, L., Leroy, P.L., Michaux, C., Mni, M., Schwers, A., Vanmanshoven P., Hanset, R. et al. (1995): The mh gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mammalian Genomes*, **6**, 788-792.

Chen, G., Koyama, K., Yuan, X., Lee, Y., Zhou, Y., O'Doherty, R., Newgard, C.B., & Unger, R.H. (1996): Disappearance of body fat in normal rats induced by adenovirus-mediated leptin gene therapy. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 14795-14799.

Clausen, I., Aaslyng, M., Oksama, M., & Baltzer, M. (2004): Forskelle i spise- og slagtekvantitet på 12 mdr. og 16 mdr. ungtyre (fodret med 3 forskellige fordringsstrategier) og malkekøer. Rapport, Slagteriernes Forskningsinstitut. Ref. Nr. 01813.

Cullen, N.G., Morris, C.A., Veenvliet, B.A., Hickey, S.M., Dobbie, P.M., & Wilson, T. (2005): Further testing of the effect of calpain-1 variant on meat tenderness in cattle. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, **65**, 270.

Cusin, I., Rohner-Jeanrenaud, F., Stricker-Krongrad, A., & Jeanrenaud, B. (1996): The weight-reducing effect of an intracerebroventricular bolus injection of leptin in genetically obese fa/fa rats. Reduced sensitivity compared with lean animals. *Diabetes*, **45**, 1446-1450.

Ertbjerg, P., Christensen, M., Failla, S., Gigli, S., Olleta, J.L., Sañudo, C., Panea, B., Alberti, P., Hocquette, J.F., Richardson, R.I., Nute, G.R., & Williams, J.L. (2006): The calpain system in 15 european cattle breeds and relationship to shear force. *52nd International Congress of Meat Science and Technology*.

Fahrenkrug, S.C., Casas, E., Keele, J.W. & Smith, T.P.L. (1999): Technical note: Direct genotyping of the double-muscling locus (mh) in Piedmontese and Belgian Blue cattle by fluorescent PCR. *Journal of Animal Science*, **77**, 2028-2030.

Fitzsimmons, C.J., Schmutz, S.M., Bergen, R.D., & McKinnon, J.J. (1998): A potential association between the BM1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. *Mammalian Genome*, **9**, 432-434.

Geary, T.W., McFadin, E.L., MacNeil, M.D., Grings, E.E., Short, R.E., Funston, R.N., & Keisler, D.H. (2003): Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. *Journal of Animal Science*, **81**, 1-8.

- Genetic Solutions (2002): The effect of the GeneSTAR[®] marbling test under typical US lot-fed finished systems. GeneNote 3. www.geneticsolutions.com.au
- Genetic Solutions (2003): GeneSTAR Marbling[®] - A key breeding and sorting tool for Japanese Black Wagyu producers. GeneNOTE 6. www.geneticsolutions.com.au
- Hansen, S., Therkildsen, M., & Byrne, D.V. (2006). Effects of a compensatory growth strategy on sensory and physical properties of meat from young bulls. *Meat Science*, **74**, 628-643.
- Houseknecht, K.L., Baile, C.A., Matteri, R.L., & Spurlock, M.E. (1998): The biology of leptin: A review. *Journal of Animal Science*, **76**, 1405-1420.
- Keele, J.W., & Fahrenkrug, S.C. (2001): Optimum mating systems for the myostatin locus in cattle. *Journal of Animal Science*, **79**, 2016-2022.
- Lagonigro, R., Wiener, P., Pilla, F., Woolliams, J.A., & Williams, J.L. (2003): A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. *Animal Genetics*, **34**, 371-374.
- Levin, N., Nelson, C., Gurney, A., Vadler, R., & de Sauvage, F.J. (1996): Decreased food intake does not completely account for adiposity reduction after ob protein infusion. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 1726-1730.
- Liboriussen, T., Andersen, B.B., Butcher, L., Kousgaard, K., & Møller, A.J. (1977). Crossbreeding experiment with beef and dual-purpose sire breeds on Danish dairy cows IV. Physical, chemical and palatability characteristics of longissimus dorsi and semitendinosus muscles from crossbred young bulls. *Livestock Production Science*, **4**, 31-43.
- Mears, G.J., Mir, P.S., Bailey, D.R.C., & Jones, S.D.M. (2001): Effect of Wagyu genetics and on marbling, backfat and circulating hormones in cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, **81**, 6573.
- Nkrumah, J.D., Li, C., Basarab, J.B., Guercio, S., Meng, Y., Murdoch, B., Hansen, C., & Moore, S.S. (2004): Association of a single nucleotide polymorphism in the bovine leptin gene with feed intake, feed efficiency, growth, feeding behaviour, carcass quality and body composition. *Canadian Journal of Animal Science*, **84**, 211-219.
- Nkrumah, J. D., Li, C., Yu, J., Hansen, C., Keisler, D. H., & Moore, S. S. (2005): Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *Journal of Animal Science*, **83**, 20-28.
- Page, B.T., Casas, E., Heaton, M.P., Cullen, N.G., Hyndman, D.L., Morris, C.A., Crawford, A.M., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Keele, J.W., & Smith, T.P.L. (2002): Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science*, **80**, 3077-3085.

Page, B.T., Casas, E., Quaas, R.L., Thallman, R.M., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., White, S.N., Bennett, G.L., Keele, J.W., Dikeman, M.E., & Smith, T.P.L. (2004): Association of markers in the bovine *CAPNI* gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *Journal of Animal Science*, **82**, 3474-3481.

Pomp, D., Zou, T., Clutter, A.C., & Barendse, W. (1997): Rapid communication: Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism. *Journal of Animal Science*, **75**, 1427.

Refsgaard Andersen, H., Bech Andersen, B., & Bang, H.G. (2001): Kødracekrydsninger: Kvier kontra ungtyre fodret med forskelligt grovfoder-kraftfoderforhold og slagtet ved forskellig vægt. DJF rapport nr. 28, Husdyrbrug. Danmarks JordbrugsForskning. 82 pp.

Rincker, C. B., Pyatt, N.A., Berger, L.L., & Faulkner, D.B. (2006): Relationship among GeneSTAR marbling marker, intramuscular fat deposition, and expected progeny differences in early weaned Simmental steers. *Journal of Animal Science*, **84**, 686-693.

Schenkel, F.S., Miller, S.P., Ye, X., Moore, S.S., Nkrumah, J.D., Li, C., Yu, J., Mandell, I.B., Wilton, J.W., & Williams, J.L. (2005): Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, **83**, 2009-2020.

Schenkel, F.S., Miller, S.P., Jiang, Z., Mandell, I.B., Ye, X., Li, H., & Wilton, J.W. (2006): Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, **84**, 291-299.

Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Cundiff, L.V., Gregory, K.E., Rohrer, G.A., & Savell, J.W. (1994): Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. *Journal of Animal Science*, **72**, 857-863.

Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., & Koohmaraie, M. (1995): Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Journal of Animal Science*, **73**, 3333-3340.

Simões, J. A., Mendes, M. I., & Lemos, J.P.C. (2005): Selection of muscles as indicators of tenderness after seven days of ageing. *Meat Science*, **69**, 617-620.

Thaller, G., Kühn, C., Winter, A., Ewald, G., Bellmann, O., Wegner, J., Zühlke, H., & Fries, R. (2003): DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Animal Genetics*, **34**, 354-357.

Vestergaard, M., Therkildsen, M., Henckel, P., Jensen, L.R., Andersen, H.R., & Sejrsen, K. (2000): Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. *Meat Science*, **54**, 187-195.

Warberg, J. (1991): Human fysiologi - En grundbog. Polyteknisk Forlag, Lyngby, Danmark. pp. 432.

Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Casas, E., Cundiff, L.V., & Koohmaraie, M. (2001): The effects of Piedmontese inheritance and myostatin genotype on the palatability of longissimus thoracis, gluteus medius, semimembranosus, and biceps femoris. *Journal of Animal Science*, **79**, 3069-3074.

White, S.N., Casas, E., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Riley, D.G., Chase, C.C. Jr, Johnson, D.D., Keele, J.W., & Smith, T.P.L. (2005). A new single nucleotide polymorphism in *CAPNI* extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred decent. *Journal of Animal Science*, **83**, 2001-2008.

Winter, A., Krämer, W., Werner, F.A.O., Kollers, S., Kata, S., Durstewitz, G., Buitkamp, J., Womack, J.E., Thaller, G., & Fries, R. (2002): Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 9300-9305.

Mørhedsmarkører anvendt i kommercielle test

Race	Antal dyr	SNP	Substitution	Frekvens			% C	Forklaret varians af fænotypisk variation (WBSF)	Reference	Anvendt i kommerciel test
				CC	CG	GG				
Hereford X Friesian [#]	193 (167 kvier; 26 stude)	μ-calpain, exon 9, as 316	C => G	CC (5) 2,6 %	CG (80) 41,5 %	GG (108) 56,0 %	23	7 %	<i>Cullen et al. 2005</i>	GeneSTAR, Igenity TenderGENE
Angus [#]	117 (kvier + tyre)	μ-calpain, exon 9, as 316	C => G	CC (57) 48,7 %	CG (55) 47 %	GG (5) 4,3 %	72	18 %	<i>Cullen et al. 2005</i>	GeneSTAR, Igenity TenderGENE
Simmental x Angus	362	μ-calpain, exon 9, as 316	C => G	CC (9) 2,3 %	CG (106) 23,3 %	GG (247) 68,2 %	17		<i>Page et al. 2004</i>	GeneSTAR, Igenity TenderGENE
Bos Taurus X (GPE 7*)	552 (stude)	μ-calpain, exon 9, as 316	C => G	CC (22) 4 %	CG (181) 32,8 %	GG (349) 63,2 %	20		<i>Page et al. 2004</i>	GeneSTAR, Igenity TenderGENE
Bos Taurus X (GPE 7*)	554 (stude)	μ-calpain, intron 17, 4751	C => T	CC (187) 33,8 %	CT (260) 46,9 %	TT (103) 18,6 %	57		<i>White et al. 2005</i>	GeneSTAR, Igenity TenderGENE
Bos Taurus X (GPE 7*)	539 (stude)	Calpastatin, CAST	G => A	CC (24) 4,5 %	CT (166) 30,8 %	TT (349) 64,8 %	19,8		<i>Casas et al. 2006</i>	GeneSTAR
Bos Taurus X (Angus, Limousin, Charolais, Simmental) [#]	628 (163 kvier, 61 tyre, 404 stude)	Calpastatin, CAST	C => G	CC	CG	GG	36,4 – 73,2	25% (dag 2) 20 % (dag 21)	<i>Schenkel et al. 2006</i>	Muligvis Igenity TenderGENE

*GPE7: Afkom fra Hereford, Angus, Rød Angus, Simmental, Gelbvieh, Limousine og Charolais tyre krydset med Angus, Hereford, eller Hereford x Angus x Pinzgauer x Red Poll køer

[#]Slægtskab ukendt. Genotype i **FED** er den mest favorable med hensyn til Warner bratzler shear force

Marmoreringsmarkører anvendt i kommercielle test

Race	Antal dyr	SNP	Substitution	Frekvens			% C	Forklaret varians af fænotypisk variation	Reference	Anvendt i kommerciel test
				TT	CT	CC				
Bos Taurus X	144	Leptin, exon 2	C => T	TT (38) 26,4 %	CT (74) 51,4 %	CC (32) 22,2 %	24 – 58 gns. 48		<i>Nkruma et al., 2004</i>	Muligvis Igenity
Bos Taurus X	914	Leptin, E2FB	C => T	TT (156) 17%	CT (449) 49 %	CC (309) 33,8 %	57,6	Fedtudbytte 3,8 % Fedttykkelse 3,9 % Kødudbytte 3,7 % WBSF 8,4 %	<i>Schenkel et al. 2005</i>	Igenity
Simmental min ¾*	175 stude	Thyreoglobulin	C => T	CC (47) 26,9 %	CT (95) 54,3	TT (33) 19,4 %	54 %		<i>Rincker et al. 2006</i>	GeneSTAR

* Studene var implanteret med Revalor S (trenbolone acetate, estradiol) 120 dage før slagtning. Muligvis har dyrene fra de andre undersøgelser også været implanteret med vækstfremmer.