

Jolanta Kurył

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu

Poprawa jakości mięsa i tuszy poprzez wprowadzenie do programów hodowli trzody chlewnej identyfikacji genotypu wrażliwości na stres

Jednym z istotnych problemów w hodowli trzody chlewnej, rozpatrywanych od ponad 30 lat, jest genetycznie uwarunkowana wrażliwość świń na stres.

Model genetycznej kontroli wrażliwości świń na stres, opracowany w latach siedemdziesiątych na podstawie badań kilku laboratoriów, zakładał, że identyfikowana testem halotanowym (narkoza wziewna przy użyciu 4,5-proc. mieszaniny halotanu z tlenem medycznym) wrażliwość świń na stres jest uwarunkowana recesywnym genem HALⁿ. Sprawia to, że homozygoty HALⁿHALⁿ są wrażliwe na halotan, a tym samym na stres, podczas gdy heterozygoty HAL^NHALⁿ i homozygoty HAL^NHAL^N są nań odporne [3]. Symptodem wrażliwości na halotan lub inny czynnik stresowy są: podwyższona temperatura ciała, arytmia serca, szybkie i głębokie oddychanie, sinoczerwone plamy w okolicach uszu i podbrzusza oraz sztywnienie mięśni kończyn. Zespół tych objawów określany mianem PSS (porcine stress syndrome), czyli świński zespół stresowy, jest wynikiem wielu nieprawidłowości metabolicznych, indukowanych czynnikiem stresowym i prowadzących do zejścia śmiertelnego.

Wpływ genotypu HAL na jakość mięsa i tuszy

Zjawisko wrażliwości świń na stres i jego oddziaływanie na jakość mięsa pierwszy opisał Ludvigsen (1954), prezentując wyniki badań przeprowadzonych w latach 1948–1950. Stwierdził on, że mięśnie świń, których śmierć nastąpiła nagle pod wpływem stresu, charakteryzuje jasna barwa, nieprzyjemny zapach i obrzęk. Zespół obserwowanych zmian określono jako degenerację mięśniową. Ze względu na coraz szerszą skalę zjawiska w populacji świń w Danii, już w latach pięćdziesiątych do oceny jakości tusz wprowadzono również kryterium jakości mięsa [2]. Mięso o jasnej barwie, miękkiej konsystencji i znacznym wycieku wody określono mianem PSE (ang. *pale* – jasne, *soft* – miękkie, *exudative* – wodniste). Zmiany PSE wpływają

Tabela 1. Fizykochemiczne parametry jakości mięsa u świń o zróżnicowanej reakcji na halotan [14]

Rasa	Reakcja na halotan	pH ₄₅	Barwa (Göfö) jedn.	Zdolność wiązania wody [%]	Przewodnictwo [%]
Landrace	–	6,28	64,6	37,2	14,9
Landrace	+	5,70	56,0	40,6	40,9
Duroc	–	6,35	68,0	37,9	12,2
Landrace x Duroc	–	6,38	65,0	38,6	11,3

Tabela 2. Parametry jakości mięsa w *M. longissimus dorsi* w zależności od genotypu HAL u świń szwedzki Landrace x szwedzki Yorkshire [13]

Cecha	Genotyp HAL			P
	NN	Nn	nn	
Wyciek wody (%)	3,2 a	5,0 b	6,1 c	***
EEL (powierzchniowe odbicie światła)	22,3 a	24,1 b	27,2 c	***
FOP (wewnętrzne odbicie światła)	36,2 a	38,7 a	48,5 b	***

a, b, c – różnymi literami oznaczono wartości różniące się przy $P < 0,001$.

Tabela 3. Parametry jakości mięsa u świń wrażliwych i odpornych na stres w zależności od metody uboju – niemiecki Landrace [15]

Cecha	Świnie odporne na stres		Świnie wrażliwe na stres	
	ubój bez stresu	ubój po stresie	ubój bez stresu	ubój po stresie
pH ₄₅	6,19	5,82	5,73	5,51
Barwa (Göfö)	65,2	63,7	61,0	55,0
Przewodnictwo (%)	28,1	42,9	52,6	74,6
Zdolność wiązania wody (%)	20,3	25,2	37,1	22,4

negatywnie na wartość technologiczną mięsa, o czym świadczą wskaźniki parametrów jakości mięsa: pH określone w 45 min po uboju (pH₄₅), wyciek wody, zdolność wiązania wody, współczynniki określające kolor mięsa, przewodnictwo [6, 9]. Wartość niektórych parametrów jakości mięsa zwierząt, różniących się wrażliwością na halotan, przedstawiono w tabeli 1 na przykładzie wyników badaczy słowackich [14]. Mięso zwierząt wrażliwych na stres ma niższą wartość pH₄₅, jaśniejszą barwę, zwiększony wyciek wody i zwiększone przewodnictwo w porównaniu z mięsem zwierząt odpornych na stres. Wyniki badaczy szwedzkich (tab. 2) są przykładem, że niektóre parametry jakości mięsa teoretycznie odpornych na stres heterozygot są

Tabela 4. Parametry jakości tuszy tuczników rasy pbz-23 w zależności od genotypu HAL [9]

Cechy	Genotypy HAL		
	NN	Nn	nn
Liczba zwierząt	25	37	25
Masa ciała w dniu uboju (kg)	98,8	101,6	99,8
Wiek w dniu uboju (dni)	213,3	216,2	228,1
Średnia grubość słoniny z 5 pomiarów (cm)	2,25	2,22	2,07
Powierzchnia oka poledwicy (cm ²)	41,5 a	44,4 ab	46,3 b
Masa szynki bez słoniny (kg)	6,61 A	7,33 B	7,43 B
Zawartość mięsa w wyrębach podstawowych (kg)	18,3 A	19,6 AB	19,8 B
Zawartość mięsa w wyrębach podstawowych (%)	57,1 A	58,2 AB	59,8 B
Zawartość mięsa w półtuszy (%)	50,1 A	51,2 AB	52,8 B

A, B – tymi samymi literami oznaczono wartości różniące się przy $P < 0,01$.

a, b – tymi samymi literami oznaczono wartości różniące się przy $P < 0,05$.

Tabela 5. Zawartość mięsa i tłuszczu w tuszy (g/kg tusz) w zależności od genotypu HAL: genotypy Nn i nn – Lacombe x Pietrain; genotyp NN – Lacombe [1]

Cecha	Genotyp HAL		
	NN	Nn	nn
Mięso bez tłuszczu	530,6 a	532,6 b	578,3 c
Kości	115,1 a	105,2 b	102,0 c
Stosunek mięsa do kości	4,6 a	5,1 b	5,7 c
Stosunek mięsa do tłuszczu	1,5 a	1,5 a	1,9 b
Zawartość tłuszczu ze skórą	354,2 a	362,2 b	319,5 c
Tłuszcz podskórny	291,7 a	300,5 b	265,2 c
Tłuszcz międzymięśniowy	54,8 a	54,4 a	48,2 b
Tłuszcz jamy ciała	7,7 a	7,2 b	6,1 c

a, b, c – różnymi literami oznaczono wartości różniące się przy $P < 0,05$.

korzystniejsze niż mięsa wrażliwych na stres heterozygot, jednak równocześnie mniej korzystne w porównaniu z odpornymi na stres homozygotami HAL^NHAL^N [13]. Wyniki badań wielu laboratoriów na świecie wskazują, że mięso 80% zwierząt o genotypie HALⁿHALⁿ wykazuje po uboju cechy PSE, podczas gdy mięso heterozygot – tylko około 20%, homozygot HAL^NHAL^N zaś – od 0 do kilku procent [1, 9].

Warunki uboju istotnie wpływają na omawiane wskaźniki jakości mięsa (tab. 3), a odpowiednio opracowana technologia uboju pozwala istotnie zmniejszyć występowanie mięsa PSE, nawet po uboju zwierząt wrażliwych na stres [15, 16, 17].

Innym istotnym problemem, który przynosi hodowcy określone straty finansowe, są upadki zwierząt wrażliwych na stres – nie tylko podczas transportu, ale również w stresowych warunkach fermowych, takich jak: słoczenie, przepędzanie zwierząt, krycie, poród, zabiegi weterynaryjne. Poza tym obserwuje się zmniejszenie plenności macior oraz obniżenie libido knurów wrażliwych na stres, jak również istotnie wyższy udział charłaków w miotach pochodzących po rodzicach obciążonych cechą wrażliwości na stres [12].

Oprócz negatywnych skutków występowania wrażliwości świń na stres zaobserwowano również cechy pozytywne dla hodowcy, a mianowicie większą ich mięsność. Dotyczyło to szczególnie świń rasy Pietrain (80–100% zwierząt wrażliwych) i różnych linii Landrace: belgijski i niemiecki (30–80% zwierząt wrażliwych), szwajcarski (20% wrażliwych), szwedzki (15% wrażliwych) oraz mieszańców uzyskanych z udziałem Landrace [7, 9]. Okazało się zatem, że wrażliwość na stres – jako problem – pojawiła się w hodowli ukierunkowanej na zwiększenie mięsności świń. Należałoby zatem tak podejść do problemu stresowości, by z kolei poprzez nie przemyślaną eliminację osobników wrażliwych na stres nie doprowadzić do obniżenia mięsności.

Parametry jakości tuszy, a szczególnie zawartość w niej mięsa, powierzchnia oka poledwicy, grubość słoniny, są z punktu widzenia hodowcy najkorzystniejsze u zwierząt o genotypie HAL^nHAL^n , czyli wrażliwych na stres. Najmniej korzystne wartości tych składników odnotowano dla odpornych na stres homozygot HAL^NHAL^N , zaś heterozygoty wykazują wartości pośrednie (tab. 4–6). Ponadto efektywność tuczu jest istotnie skorelowana z wrażliwością na stres (tab. 6).

Tabela 6. Zależność między użytkowością świń rasy szwedzki Landrace a genotypem HAL [16]

Cecha	Genotyp HAL		
	NN	Nn	nn
Liczba zwierząt	23	69	25
Masa ciała w dniu uboju (kg)	102	103	101
Standaryzowany dzienny przyrost masy ciała (g)			
— od urodzenia do 50 kg	605	592	584
— od 50 kg do uboju	885 a	902 a	953 b
— od urodzenia do uboju	760 a	774 a	800 b
Zużycie paszy (kg/dzień)	2,08 a	2,07 ab	2,03 b
Zużycie paszy na kg przyrostu masy ciała (kg/kg)			
— standaryzowane	2,72 a	2,66 a	2,54 b
— niestandaryzowane	2,69 a	2,65 ab	2,57 b
Zawartość mięsa w tuszy (%)	58,7 a	60,1 b	62,2 c
Grubość słoniny (mm)	14,7	14,9	14,2
Masa szynki (kg)	9,0 a	9,0 a	9,2 b

a, b, c – różnymi literami oznaczono wartości różniące się przy $P < 0,05$.

Genotyp HAL jest zatem dla hodowcy ważnym wskaźnikiem przydatności określonych zwierząt do hodowli, gdyż wpływa on istotnie na jakość tuszy i mięsa. Najbardziej idealnym genotypem wydają się heterozygoty, są one bowiem odporne na stres, a przy odpowiedniej technologii uboju udział mięsa o cechach PSE może być niewielki (kilkuprocentowy) [9, 17]. Parametry jakości tuszy tuczników o tym genotypie są natomiast zbliżone do najkorzystniejszych, czyli wykazywanych przez homozygoty allelu HAL^n . Te ostatnie natomiast – ze względu na wrażliwość na stres i wysoki procent występowania mięsa PSE – są mniej wartościowe dla hodowcy.

Metody identyfikacji wrażliwości świń na stres

Jak już wspomniano, pierwszą historycznie metodą identyfikacji świń wrażliwych na stres był test halotanowy, który jednak nie różnicował osobników odpornych o dwu różnych genotypach, a mianowicie $HAL^N HAL^N$ i $HAL^N HAL^n$. Nie pozwalał zatem identyfikować nosicieli genu wrażliwości na stres.

W latach 1983–1991 zróżnicowanie tych dwu genotypów osiągnęto przez jednoczesne stosowanie testu halotanowego i badania polimorfizmu białek krwi i grup krwi w odniesieniu do co najmniej trzech spośród pięciu loci położonych na tym samym chromosomie, na którym zlokalizowany jest locus HAL, i z nim ściśle sprzężonych (metoda haplotypowania) [2, 5]. Wyniki identyfikacji genotypów HAL tą metodą były jednak obciążone błędem dochodzącym w niektórych rodzinach świń do 15–20 %, a ponadto nie dla wszystkich zwierząt metodę tę można było zastosować [10, 11]. Ograniczenia jej wynikały z następujących przyczyn:

- zróżnicowania w stopniu reakcji na halotan u osobników różnych ras czy linii, a nawet różnic w reakcji u tego samego osobnika przy powtórnych teście,
- braku reakcji na halotan u niektórych osobników o genotypie $HAL^n HAL^n$ oraz wrażliwości na halotan niektórych osobników o genotypie $HAL^N HAL^n$ lub nawet $HAL^N HAL^N$.

Ponadto warunkiem zastosowania tej metody były:

- określony wiek zwierząt, które mogły być poddane testowi halotanowemu (8–12 tygodni),
- konieczność analizy całych miotów i wrażliwość na halotan przynajmniej jednego prosięcia w miocie.

Powyższe trudności zniechęcały hodowców do wprowadzenia tej metody identyfikacji świń wrażliwych na stres jako jednego z kryteriów pracy selekcyjnej. W Szwecji, Szwajcarii, Belgii, b. Czechosłowacji metoda ta stała się jednak jednym z elementów uwzględnianych przy programowaniu kojarzeń.

W roku 1991 naukowcy kanadyjscy opublikowali wyniki badań wskazujące, że hipotetyczny dotychczas gen wrażliwości na stres HAL^n – to zmutowany gen jednej ze strukturalnych podjednostek białka membranowego sarkoplazmatycznego reticu-

lum mięśni szkieletowych, które bierze udział w transporcie jonów wapnia, a mianowicie – kanału wapniowego (gen RYR1) [4]. Na skutek mutacji genu zmiana ulega sekwencja aminokwasów w taki sposób, że białko nie funkcjonuje prawidłowo, czego wynikiem jest ucieczka jonów wapnia z komórki pod wpływem bodźca stresowego i dalsze nieprawidłowości w wielu procesach fizjologicznych noszące miano gorączki złośliwej (MHS). Jej rezultatem jest występowanie po uboju mięsa o cechach PSE.

Badacze kanadyjscy opracowali molekularną metodę identyfikacji mutacji genu (metoda PCR/RFLP). Polega ona na powieleniu fragmentu genu RYR1 obejmującego 1843 nukleotyd w sekwencji genu, bowiem cytozyna w tej pozycji genu normalnego zostaje podstawiona przez tyminę w genie zmutowanym. Proces ten nazywany jest "reakcją łańcuchowej polimeryzacji" (ang. *polymerase chain reaction* – PCR). Produkty PCR poddane trawieniu odpowiednim enzymem rozdzielane są elektroforetycznie, co pozwala różnicować genotypy RYR1 (technika RFLP) [4]. Metoda ta jest niezwykle efektywna, bowiem:

- pozwala bezpośrednio określić wszystkie genotypy wrażliwości na stres, w przeciwieństwie do testu halotanowego i metody haplotypowania,
- zwierzęta badane mogą być w dowolnym wieku, bez konieczności testowania rodziców czy rodzeństwa,
- materiałem do badań jest zaledwie 50–100 µl krwi.

Problem podatności świń na stres i jego oddziaływanie na wyniki hodowli w Polsce

Wyniki badań przeprowadzonych przez kilka ośrodków naukowych wskazują, że około 30% mięsa wieprzowego pozyskiwanego w Polsce charakteryzuje się obniżoną wartością technologiczną [8]. Wprowadzając obecnie na szeroką już skalę rasę Pietrain, w celu poprawy umięśnienia tuszy świń hodowanych w naszym kraju, należałoby niezwłocznie identyfikować genotyp HAL osobników wprowadzanych do programów kojarzeń. W świetle wyników wstępnych badań własnych przeprowadzonych na potomstwie niektórych knurów Pietrain, które zakupiono w Niemczech jako odporne na stres, można już stwierdzić, że były one heterozygotami i po pokryciu loch o nieznanym genotypach dały potomstwo wrażliwe na stres. Wskazywałoby to, że lochy były również co najmniej heterozygotami (25% potomstwa wrażliwego na stres) lub też były wrażliwymi na stres homozygotami (50% potomstwa jest wrażliwe na stres) (tab. 7).

Tabela 7. Mendlowska segregacja genotypów wrażliwości na stres wśród potomstwa pochodzącego z różnych typów kojarzeń

Genotyp HAL rodziców	Genotyp HAL potomstwa	Wrażliwość na stres
NN x NN	100% NN	odporne
NN x Nn	50% NN	odporne
	50% Nn	odporne
NN x nn	100% Nn	odporne
Nn x Nn	25% NN	odporne
	50% Nn	odporne
	25% nn	wrażliwe
Nn x nn	50% Nn	odporne
	50% nn	wrażliwe
nn x nn	100% nn	wrażliwe

Program kojarzeń z uwzględnieniem genotypu HAL w celu produkcji materiału zgodnie z oczekiwaniem hodowcy

Jak już wspomniano, gen wrażliwości świń na stres negatywnie oddziałuje na jakość mięsa oraz na reakcję zwierzęcia na warunki środowiskowe, lecz jednocześnie korzystnie wpływa na jakość tuszy. Należy zatem programy kojarzeń konstruować w taki sposób, by nie produkować zwierząt wrażliwych na stres, bowiem przynoszą one hodowcy znaczące straty finansowe, jednak równocześnie należy utrzymać ten gen w populacji, bowiem zapewnia on korzystne parametry umięśnienia tuszy i ogranicza jej otłuszczenie.

Możliwe są dwa warianty programu kojarzeń:

wariant I:

- określenie genotypu HAL u loch i wybór do reprodukcji jedynie wolnych od genu wrażliwości na stres, tj. o genotypie $HAL^N HAL^N$,
- krycie knurami ras wysokomięsnych (np. Pietrain) bez konieczności ich testowania, bowiem genotyp loch zapewnia odporność potomstwa na stres (tab. 7).

wariant II:

- określenie genotypu HAL zarówno u loch, jak i knurów wprowadzanych do programu kojarzeń,
- kojarzenia na podstawie znanych genotypów, co pozwoli produkować potomstwo o oczekiwanym genotypie, np. heterozygoty $HAL^N HAL^n$ do tuczu.

Wynika stąd wnioszek, że wprowadzenie do programu kojarzeń zwierząt o zidentyfikowanych genotypach HAL pozwala produkować potomstwo o najkorzystniejszych parametrach jakości tuszy i mięsa.

Literatura

- [1] Aalhus J. L., Jones S. D. M., Robertson W. M., Tong A. K. W., Sather A. P. 1991. Growth characteristics and carcass composition of pigs with known genotypes for stress susceptibility over a weight range of 70 to 120 kg. *Anim. Prod.* 52: 347–353.
- [2] Andresen E. 1987. Selection against PSS by means of blood typing. In: Evaluation and Control of Meat Quality in Pigs. (Eds) P. V. Tarrant, G. Eikelenboom, G. Monin. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster: 317–327.
- [3] Archibald A. L., Imlah P. 1985. The halothane sensitivity locus and its linkage relationships. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.* 16: 253–263.
- [4] Fujii J., Otsu K., Zorzato F., De Leon S., Khanna V. K., Weiler J. E., O'Brien P., MacLennan D. H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hypertension. *Science* 253: 448–451.
- [5] Gahne B., Juneja R. K. 1985. Prediction of the halothane (HAL) genotypes of pigs by deducing Hal, Phi, Po2, Pgd haplotypes of parents and offspring: results from a large scale practice in Swedish breeds. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.*, 15: 265–283.
- [6] Janicki M. A. 1970. Mięso wodniste, jego znaczenie i występowanie. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 103: 13.
- [7] Kamyczek M. 1991. Użytkowość tuczna i rzeźna świń o różnym udziale krwi rasy belgijskiej zwistouchej z uwzględnieniem reakcji na halotan. Praca doktorska, Instytut Zootechniki, Balice.
- [8] Koćwin-Podsiadła M., Kurył J. 1990. Jakość mięsa wieprzowego w Polsce. *Przeg. Hod.* 4: 17–20.
- [9] Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., Przybylski W. 1993. Fizjologiczne i genetyczne tło występowania wad wieprzowiny indukowanych stresem. *Pr. Mat. Zoot.* 44: 5–31.
- [10] Kurył J., Korwin-Kossakowska A. 1993. Genotyping od HAL locus by PCR method explains some cases of incomplete penetrance of HALⁿ gene. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 11: 271–277.
- [11] Kurył J., Korwin-Kossakowska A., Koćwin-Podsiadła M. 1994. A comparative analysis of HAL genotypes defined by HAL-GPI-A1BG-PGD haplotyping and RYR1 genotypes identified by PCR/RFLP test. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 12: 123–132.
- [12] Kurył J., Wróblewski T. 1991. Wpływ stresu na reprodukcję świń. *Przeg. Hod.* 10: 25–27.
- [13] Lundstrom K., Essen-Gustavsson B., Rundgren M., Edfors-Lilja I., Malmfors G. 1989. Effect of halothane genotype on muscle metabolism at slaughter and its relationship with meat quality: a within-litter comparison. *Meat Sci.* 25: 251–263.
- [14] Poltarsky J., Bulla J. 1984. Halotanovy test ako indikator citlivosti na stres, konstituciu a horsiu kvalitu masa osipanych. *Ziv. Vyr.* 29: 793–802.
- [15] Poltarsky J., Bulla J. 1985. Predporazkovy stres a kvalita masa osipanych s rozdielnou reakciou na halotan. *Ziv. Vyr.* 30: 807–816.
- [16] Rundgren M., Lundstrom K., Edfors-Lilja I. 1990. A within-litter comparison of three halothane genotypes. 2. Performance, carcass quality, organ development and longterm effect of transportation and amperozide. *Livest. Prod. Sci.* 26: 231–243.
- [17] Woltersdorf W., Troeger K., 1987. Schlachttechnik zur Verringerung des PSE-Anteils beim Schwein. *Fleischwirtschaft* 67: 724–730.

Improvement of meat and carcass quality through introduction of identification of stress-sensitivity genotype into pig breeding programme

Summary

Stress-sensitivity of pigs determined by recessive gene HAL^n is known as a significant problem in breeding. The pigs of HAL^nHAL^n genotype are stress-susceptible and high percent of these animals develop PSE meat post mortem. The animals of HAL^NHAL^N or HAL^NHAL^n genotype are stress-resistant and their meat is classified as normal. The HAL^n gene affects advantageously growth rate, feed conversion ratio and higher lean content. Thus, HAL^NHAL^n genotypes are the best material for fattening. The HAL genotype should be defined by molecular method – PCR/RFLP.