

STRESNA OSJETLJIVOST SVINJA - STANJE I TRENDOMI

D. Škorput, Petra Delić, Ana Kaić, Z. Luković, D. Karolyi

Sažetak

Genetski uvjetovana stresna osjetljivost svinja jedan je od najpoznatijih problema koji se javlja u proizvodnji i preradi svinjskog mesa. Imajući u vidu ekonomsku važnost proizvodnje svinjskog mesa ova se pojava nastoji izbjeći budući da može povećati mortalitet u završnoj fazi proizvodnje uslijed razvoja maligne hipertermije te uzrokovati probleme za mesnu industriju zbog loše kvalitete svinjskog mesa koje je manje pogodno za tržište ili preradu zbog nepovoljnih fizikalno-kemijskih karakteristika. Cilj ovog rada bio je prikazati mehanizam nastanka sindroma maligne hipertermije kod stresno osjetljivih svinja, čimbenike koji pridonose ovoj pojavi, opisati pasmine svinja koje su podložne stresnoj osjetljivosti, definirati utjecaj stresne osjetljivosti na svojstva i kakvoću mesa, te mjere za prevenciju kako bi proizvodnja svinjskog mesa bila što ekonomičnija i bez navedenih gubitaka. Uz genetske analize i selekciju protiv mutiranog *ryanodin receptor-1* gena (*RYR1*), stres kod svinja nastoji se izbjeći strožim zakonima vezanima za dobrobit životinja usmjerenim na pravilno postupanje sa životinjama. Osiguranjem adekvatnog prijevoza, mikroklimatskih uvjeta na farmama i prijevoznim sredstvima, te blažim postupcima neposredno pred klanje i pravilnim omamljivanjem može se smanjiti stres kod svinja, a pri tome izbjeći negativne promjene na mesu. Trenutno stanje glede stresne osjetljivosti svinja u Republici Hrvatskoj je zadovoljavajuće, s obzirom da laboratorijskim analizama nije utvrđena prisutnost recesivnih homozigota, uz mali broj heterozigota za gen odgovoran za pojavu stresne osjetljivosti.

Ključne riječi: svinje, stresna osjetljivost, RYR1, kakvoća mesa

Uvod

Stresna osjetljivost svinja je genetski recesivno uvjetovana nepoželjna pojava u proizvodnji svinjskog mesa, a očituje se sindromom maligne hipertermije svinja u stresnim situacijama te pogoršanom kakvoćom mesa. Ludvigsen (1953.) je prvi opisao ovu pojavu u danskih pasmina svinja s pojavom simptoma poput povišene tjelesne temperature, otežanog disanja, grčeva mišića i blage cijanoze. Genetska mutacija odgovorna za stresnu osjetljivost svinja je široko raširena i komercijalno važna te uzrokuje značajne ekonomske probleme uzgajivačima svinja i prerađivačima svinjskog mesa. Mutaciju su prvi put opisali Ollivier i sur. (1975.). Kod svinja koje su homozigotne za gen koji uzrokuje osjetljivost na stres javljaju se sljedeći znakovi: snažan mišićni razvoj i smanjeno nakupljanje masti, sklonost brzom denaturaciji mišića *post mortem* te osjetljivost na stres i anestetike koji mogu uzrokovati smrt i ozbiljan gubitak kvalitete mesa (Topel i sur., 1968.). Mutacija je prvi put otkrivena kod svinja pasmine pietren u Belgiji prilikom odabira životinja koje su imale razvijenu ekstremnu mišićavost. Početkom 1950-ih, recesivni alel se počeo brzo širiti u visokoselekcioniranih pasmina svinja, sve dok nije dosegnuo gotovo epidemijske razmjere (O'Brien i Ball, 1999.). Njegovo širenje bilo je potaknuto potražnjom za povećanom proizvodnjom mesnatih svinja i smanjenjem nakupljanja masti, ali uz

Dubravko Škorput, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za specijalno stočarstvo, dopisni autor, e-mail: dskorput@agr.hr, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb. Petra Delić, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Ana Kaić, Zoran Luković, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za specijalno stočarstvo, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb, Danijel Karolyi, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za opće stočarstvo, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb.
Rad je izvadak iz završnog rada studentice Petre Delić naslova „Stresna osjetljivost svinja“

zanemarivanje kvalitete mesa, s obzirom da geni odgovorni za pojavu stresne osjetljivosti, osim posljedica po zdravlje životinje, imaju utjecaj na kakvoću i izgled samog mesa. Organoleptička svojstva takvog mesa dovode do problema s ekonomskog stajališta jer je svježe meso izgledom odbojno za kupnju, a nije pogodno za bilo kakav oblik prerade. Uz sve to, proizvođači svinja stresno osjetljive jedinke izlučuju iz uzgoja što dovodi do povećanja remonta stada i dodanih troškova nabave novih jedinki.

Cilj ovog rada bio je prikazati mehanizam nastanka sindroma maligne hipertermije, čimbenike koji pridonose samoj pojavi, opisati pasmine svinja koje su podložne stresnoj osjetljivosti, definirati utjecaj stresne osjetljivosti na karakteristike i kakvoću mesa, te razmotriti trenutno stanje i trendove i mogućnosti za rješavanje problema stresne osjetljivosti svinja.

Stresna osjetljivost svinja – oblici pojave i fiziološka osnova

Sindrom stresne osjetljivosti svinja može se manifestirati u obliku maligne hipertermije, nekroze leđnih mišića i post-mortalno blijedim, mekim i vodnjikavim (BMV) mesom. Maligna hipertermija je oblik stresnog sindroma u vidu brzog metaboliziranja mišićne energije i porasta tjelesne temperature koji se javlja kod osjetljivih svinja kao reakcija na napor i vanjske stresore ili nakon primjene anestetika halotana koji se prije uvođenja genetskih analiza koristio kao dijagnostički test za otkrivanje recesivnih homozigota osjetljivih na stres (Lipej, 2016.). U takvim uvjetima opskrba organizma kisikom postaje nedostatna što dovodi do otežanog disanja i cijanoze, a u težim slučajevima i uginuća životinje. Nekroza leđnih mišića specifičan je i rijedak oblik sindroma koji se najčešće javlja kod mladih nazimica i ženskih tovljenika. Simptomi se očituju na području najdužeg leđnog mišića (*m. longissimus dorsi*) koji se proteže od vrata do zdjelice svinja. Sindrom se može prepoznati prema oteklinama i bolnosti u području leđnog mišića što posljedično vodi do pogrbljenog držanja, savijanja kralježnice, otežanog kretanja i sjedenja u stavu psa. U akutnom obliku sindrom traje oko 2 tjedna, te nakon toga životinje ugibaju, a liječenja nema. BMV meso nastaje neposredno *post mortem* zbog ubrzane mišićne glikolize koja uzrokuje nakupljanje većih količina mliječne kiseline što dovodi do smanjenja pH vrijednosti i denaturacije bjelančevina u mišićima. Pogođeno meso je izrazito blijedo i pogoršanih karakteristika koje su važne kod njegove prerade.

U stresnim situacijama kod stresno osjetljivih svinja pojačano je lučenje katekolamina iz srži nadbubrežne žlijezde. Katekolamini se vežu na beta receptore membrana mišićnih stanica i time aktiviraju enzim adenociklazu koja utječe na pokretanje brojnih enzimskih reakcija koje dovode do razgradnje glikogena kao rezervnog polisaharida u životinjskom organizmu. Kod stresno osjetljivih svinja pojačana je razgradnja mišićnog glikogena do mliječne kiseline, te zbog slabije funkcije krvožilnog sustava jetra ne može uspješno resintetizirati mliječnu kiselinu ponovo u glikogen i dolazi do ubrzanog pada pH u mišićima. Uzrok pojačane razgradnje glikogena i pada pH vrijednosti u mišićima ovakvih svinja je i veća brzina otpuštanja kalcijevih iona s ryanodinskih receptora sarkoplazmatskog retikuluma u sarkoplazmu što produžuje mišićne kontrakcija i još više potiču razgradnju glikogena (O'Brien, 1986.). Razgradnjom glikogena oslobađa se mliječna kiselina koja u kombinaciji sa brzim padom pH vrijednosti *post-mortem* potiče denaturaciju, odnosno razgradnju miofibrila u mišićima, te pojačano otpuštanje vode iz mišićnih stanica (Karolyi, 2004.a). Posljedica denaturacije mišićnih bjelančevina je smanjena sposobnost vezanja vode i veća refleksija svjetlosti nego kod normalnog svinjskog mesa

zbog čega je boja mesa izgledom blijeda. Također, struktura mesa je mekša uz više površinskog iscjetka, pa se prema tome i stanje takvog mesa naziva BMV meso. S obzirom da dolazi do denaturacije bjelančevina u mišićima, BMV meso gubi poželjna fizikalno-kemijska svojstva i svoju hranjivu vrijednost, što dovodi i do pogoršanih organoleptičkih i tehnoloških svojstava (boja, vodenasto meso) i posljedično do lošeg plasmana na tržištu ili preradi.

Čimbenici koji utječu na stresnu osjetljivost

Tijekom boravka na farmi svinje mogu doživjeti stres ukoliko im mikroklimatski uvjeti u nastambi ne odgovaraju. Također, za reakciju na stres je važna i hranidba. Čimbenici koji najviše utječu na pojavu simptoma su stresne situacije poput transporta, neadekvatnog smještaja, te hijerarhijskih poredaka unutar skupine. Čačić i sur. (2015.) navode da osim gore navedenih čimbenika, na pojavu stresne osjetljivosti mogu utjecati i estrus, parenje, porod, cijepljenje i kastracija, te manipulacija prije klanja. Tijekom prijevoza od farme do klaonice svinje su izložene jednom od najvećih stresora u svom životu, a to su upravo utovar, transport i istovar. Navedene radnje trebalo bi provoditi što mirnije te sukladno Pravilniku o zaštiti životinja tijekom prijevoza i s prijevozom povezanih postupaka (NN 12/2011), koji nalaže da se životinje ne smiju prevoziti na način koji bi mogao izazvati ozljede ili ne potrebne patnje životinji, te se kod transporta, utovara i istovara moraju zadovoljiti odgovarajući uvjeti vezani uz prijevozno sredstvo, vozača, odnosno prijevoznika, te samog putovanja. Kopneni prijevoz najčešći je oblik transporta životinja od farme do klaonice, a za prijevoz svinja najčešće se koriste vozila s više etaža. Tijekom takvog putovanja životinje se moraju prilagoditi novonastalim uvjetima što za njih, pogotovo za svinje predstavlja veliki stres. Senčić i Samac (2018.) navode da čimbenici koji doprinose razvoju stresa tijekom transporta su: promjena brzine kretanja vozila, vibracije, buka, kontakt s drugim životinjama, stvaranje novih socijalnih skupina, te izlaganje nepovoljnim mikroklimatskim uvjetima u koje se ubrajaju temperatura, relativna vlažnost zraka i hladnoća. Također isti autori navode kako su hidraulične rampe pri utovaru i istovaru bolje i manje uzrokuju stres. Ako se koriste uobičajene utovarno-istovarne rampe, njihov nagib treba iznositi maksimalno 20 stupnjeva u odnosu na zemlju. Pri ulasku svinja u kamion ili drugo prijevozno sredstvo svinjama treba dopustiti da se do rampe kreću svojim uobičajenim hodom, te osigurati dovoljnu širinu hodnika i nikako ne upotrebljavati električne goniče ili druge oblike tjeranja koji mogu ozlijediti životinju. Faucitano i Goumon (2018.) navode da uzimanje hrane prije transporta, uklanjanje električnih goniča i vožnja svinja u manjim skupinama, te kretanje kroz dovoljno široke koridore i rampe olakšava postupanje s životinjama prilikom transporta, smanjuje gubitke u prijevozu i održava kakvoću mesa. Kod prijevoza svinja u većim skupinama teže je njima manipulirati, te je potrebno više vremena za njihov utovar i istovar što može uzorkovati dodatan stres (Gesing i sur., 2010.). Nasuprot tome, loš dizajn transportnog vozila i utovar preko rampi koje nisu hidraulične ili su prestrme predstavlja veliki fizički napor za svinje što povećava fizički napor i za samog rukovoditelja (Torrey i sur., 2013.). Prema Senčić i Samac (2018.) optimalna temperatura u transportnom vozilu trebala bi biti 10-15 °C. Prema Pravilniku u prijevozu svinja treba osigurati minimalno 0,5 m² podne površine na 100 kg žive vage svinja, odnosno da svaka životinja istodobno može slobodno ležati i stajati. Treba izbjegavati prijevoz za vrijeme visokih temperatura, te svinje ljeti prevoziti noću ili rano ujutro.

S druge strane, utovar svinja opasniji je tijekom zime nego ljeti jer češće dolazi do pokliznuća i padova što rezultira raznim ozljedama. Pri dužim transportima svinje treba redovito napajati i hraniti, ali ne prečesto kako ne bi došlo do kontaminacija trupova. S druge strane brzina i način vožnje utječe na pojavu stresa zbog pojave vibracija i gubitka ravnoteže te sudaranja svinja sa stjenkama vozila.

Nakon transporta do klaonice za smirivanje svinja pomaže boravak u stočnom depou koji bi prema Warrissu (2003.) trebao iznositi od 1 do 3 sata. U tom periodu pada razina kortizola u krvi svinja, svinje se smiruju te je manja vjerojatnost pojave BMV mesa. Kod prekratkog boravka u stočnom depou Senčić i Samac (2018.) navode da su svinje još uvijek uznemirene, što vodi do pojave BMV. Osim boravka u stočnom depou u postupke prije klanja ubraja se i omamljivanje koje bi trebalo biti brzo i učinkovito kako svinje pri klanju ne bi osjećale bol, strah ili stres. Grandin (2010.) navodi da kod električnog omamljivanja svinja treba pravilno postaviti elektrode, čvrsto uzv tijelo, te koristiti struju adekvatne snage, napona i frekvencije kroz potrebno vrijeme kako bi došlo do uspješnog omamljivanja. Omamljivanje se osim električnom strujom, može provoditi i plinom pri čemu se najčešće koristi ugljični dioksid. Prema Senčić i Samac (2018.) još uvijek se traži metoda za omamljivanje koja neće uzrokovati preveliki stres u svinja jer svaka od navedenih može nepovoljno utjecati na dobrobit životinja, a na kraju i kvalitetu mesa.

Genetska predispozicija svinja na stresnu osjetljivost

Stresna osjetljivost je genetski uvjetovan sindrom koji se javlja kao posljedica nasljedne greške (mutacije) na autosomnom *RYR1* (*ryanodin receptor-1*) recesivnom genu koji kodira protein ryanodinskih receptora Ca^{2+} kanala sarkoplazmatskog retikuluma skeletnih mišića. U praksi se još naziva i hal ili halotan osjetljivi gen (Lipej, 2015.). Naziv je dobio prema starom načinu otkrivanja mutacije na tom genu pomoću inhalacije plina halotana pod čijom su izloženosti stresno osjetljive svinje reagirale mišićnom ukočenošću i uginućem. Stresnu osjetljivost uzrokuje mutacija C baze u T bazu (timin umjesto citozina) na 1843. nukleotidu ryanodin receptor-1 gena koji se nalazi na 6. kromosomu (Fujii i sur., 1991.). Posljedično, dolazi do zamjene argininskog (Arg) aminokiselinskog ostatka na 615 položaju normalne sekvence proteina sa cisteinskim (Cys) ostatkom kod mutirane sekvence, pri čemu nastaje abnormalni bjelančevinski produkt koji omogućava brži i postojaniji prolaz Ca^{2+} iona iz sarkoplazmatskog retikuluma u sarkoplazmu u kojoj iniciraju kontrakcijski ciklus. Kako navodi Karolyi (2003.), u mišićima stresno osjetljivih svinja, koncentracija iona kalcija potrebna da inaktivira ryanodinske receptore od Ca^{2+} iona i uspostavu normalne koncentracije kalcijevih iona u sarkoplazmi koja je neophodna za opuštanje mišićne kontrakcije, je oko 10 puta viša nego u normalnih svinja. Porast koncentracije iona kalcija u sarkoplazmi produžuje stimulaciju mišićne kontrakcije izazivajući ubranu razgradnju glikogena, porast metabolizma i proizvodnju topline. Navedeni se gen može javiti u 3 oblika genotipa i 2 fenotipa; *NN* genotip predstavlja svinje koje nisu sklone pojavi stresne osjetljivosti, *Nn* predstavlja heterozigotni oblik koji nije sklon stresnoj osjetljivosti, ali križanjem s recesivnim homozigotom *nn* koji je sklon stresnoj osjetljivosti također daje potomstvo osjetljivo na stres.

Metode određivanja stresne osjetljivosti

Metoda lančane reakcije polimerazom (Polimerase Chain Reaction - PCR) tehnika je oja se temelji na umnažanju gena ili dijelova gena, te omogućuje kopiranje dijelova DNK. Garibyan i Avashia (2014.) su lančanu reakciju polimerazom predstavili kao jednostavan enzimski test koji omogućuje umnožavanje specifičnog fragmenta. Na ovako opisani način u svrhu otkrivanja stresne osjetljivosti otkriva se točkasta mutacija u genu *RYR1*. Luković (2001.) navodi da se genotip *NN* može izrezati u dva fragmenta, genotip *Nn* se izrezuje u tri, a *nn* u jedan fragment. Navedena činjenica daje prednost PCR testu u odnosu na druge metode za otkrivanje stresne osjetljivosti svinja zbog mogućnosti razlučenja sva 3 genotipa, što kod halotan testa na primjer nije slučaj. Osim toga, prednosti PCR testa su što je metoda jednostavna, brzo daje rezultate i uzimanje uzoraka je relativno jednostavno i manje stresno za životinje. Brzina davanja rezultata od velike je važnosti za velike farme svinja jer omogućuje pravovremenom donošenje odluka vezanih za izlučenje rasplodnih grla i upravljanje jedinkama pogođenih stresnom osjetljivosti koje negativno utječu na ekonomiju farme. Metoda također omogućuje korištenje heterozigotnih nerastova u završnim križanjima kako bi se povećala mesnatost svinja. Nedostatak ove metode leži u njezinoj izuzetnoj osjetljivosti, gdje svaka kontaminacija uzoraka može uzrokovati netočne rezultate analize. Također, mogu se pojaviti pogreške prilikom pripreme uzoraka, a metoda je skupa i neisplativa kada se analizira manji broj uzoraka.

Utjecaj stresne osjetljivosti na tovnost svojstva

Luković (2001.) je u svom istraživanju prikazao odnos dominantnih homozigota koji nemaju recesivni alel *n* i heterozigota s recesivnim alelom *n* koji prenose gen za stresnu osjetljivost u pogledu tovnih svojstava. Istraživanje je pokazalo kako postoji značajna razlika kod križanaca genotipa *NN* i *Nn*, pri čemu je to trajao dulje kod heterozigotnog genotipa nego kod homozigota, a dnevni prirasti su kod heterozigota bili manji nego kod homozigota ($P < 0,05$). Do istih zaključaka došli su i Senčić i sur. (1989.) pri istraživanju nad 20 halotan pozitivnih i 20 halotan negativnih svinja. Navedeni rezultati pokazuju potrebu za izlučenjem jedinki koje imaju prisutan recesivni alel jer dominantni homozigoti pokazuju kraće trajanje tova, te u tom razdoblju veće dnevne priraste. Također utvrđeno je da ne postoje značajne razlike u konverziji hrane, čak je manja konverzija hrane kod križanaca s pietrenom zbog veće sinteze mišićnog tkiva nego masnog za čiju je sintezu potrebna veća količina hrane. U negativnoj genetskoj korelaciji s debljinom slanine je mesnatost koja je također veća kod halotan- pozitivnih, nego u halotan- negativnih svinja. Isto potvrđuju i Fisher i sur. (2000.) koji navode da svinje genotipa *nn* imaju najmanji udio masnog tkiva u odnosu na svinje genotipova *Nn* i *NN*.

Utjecaj stresne osjetljivosti na kakvoću mesa

Na pojavu stresne osjetljivosti, a time i na kakvoću mesa koja je usko povezana sa pojavom stresne osjetljivosti utječu razni genetski i negenetski čimbenici. Najčešće do pogoršanja kakvoće mesa dolazi prilikom neadekvatnih postupaka sa svinjama tijekom transporta i prije klanja. Pri tom ako su svinje genetski osjetljive na stres u kombinaciji sa navedenim negenetskim čimbenicima pojavit će se najčešće BMV meso, te rjeđe tvrdo, čvrsto i suho meso, koje nije genetski uvjetovano, a javlja se u neadekvatnim uvjetima prije klanja, npr. produženom gladovanju uz fizički napor. S obzirom na genetski utjecaj recesivnog alela *n* na mesnatost, Margeta i sur. (2010.) su u svojim istraživanjima pokazali da svinje koje su bile heterozigoti (*Nn*)

imaju bolji prinos mišićnog tkiva u polovicama te tanju slaninu i veću debljinu mišića. Karolyi (2004a.) navodi da je svježe svinjsko meso normalne kakvoće crvenkasto-ružičaste boje, kompaktne strukture i suhe površine, odnosno meso je crveno, čvrsto i meso bez eksudata (*engl. RFN -red, firm and non exudative*). Svako odstupanje od opisanog u smislu BMV mesa dovodi do nepoželjnih svojstava mesa koja mogu biti odbojna potrošačima zbog boje i izgleda ili lošija u preradi zbog fizikalnih karakteristika nepogodnih za daljnju preradu. BMV meso prema Čobanoviću (2018.) nastaje kada pH vrijednost unutar 45 minuta nakon klanja padne ispod 6. Granična pH vrijednost izmjerena neposredno nakon klanja (pH_1) za identifikaciju BMV mesa varira u različitim istraživanjima. Adzitey i Nurul (2011.) navode da se meso čija je pH vrijednost ispod 6 smatra BMV mesom. Međutim, Jankowiak i sur. (2021.) kao granicu za BMV meso navode pH ispod 5,8, dok je vrijednost između 5,8 i 6,0 meso sumnjivo na BMV. Osim pH vrijednosti mesa, BMV meso je blijedo-ružičaste boje, lošije sposobnosti vezanja vode i slabijih funkcionalnih svojstava u preradi. BMV meso javlja se najčešće u mišićima koje izgrađuju pretežno bijela mišićna vlakna, kao što su najduži leđni mišić (*m. longissimus dorsi*) i neki mišići buta poput *m. biceps femoris*. Razlog tome je što bijela mišićna vlakna imaju veću količinu glikogena i glikolitičkih enzima te sintetiziraju energiju pretežito u anaerobnom glikolitičkom ciklusu. Kod stresno osjetljivih svinja nagli porast koncentracije Ca^{2+} iona u citoplazmi mišićnih stanica povećava brzinu iskorištavanja mišićnog adenozin-trifosfata (ATP) i razgradnju glikogena do mliječne kiseline, uzrokujući ubrzani pad pH vrijednosti mišića dok se temperatura mesa još nije snizila nakon klanja. Zbog visoke temperature i niske pH vrijednosti dolazi do denaturacije miofibrilarnih i drugih bjelančevina (npr. mioglobina) i otpuštanja velikih količina vode iz mišićnih stanica. Senčić i Samac (2018.) prikazuju bijela mišićna vlakna kao vlakna većeg promjera sa manje mioglobina, a više citokroma te manje aktivnosti oksidativnih enzima. Kontrahiraju se brzo i grčevito uz brzo oslobađanje energije, dok u crvenim mišićnim vlaknima ima više mioglobina koji sadrži kisik kojeg pod određenim pritiskom prima iz krvotoka. Zbog ovog mehanizma djelovanja kisika tzv. tamni mišići, građeni pretežno od crvenih mišićnih vlakana prilikom pojačane aktivnosti uslijed djelovanja stresora na organizam svinja sporije ulaze u anaerobno stanje. Kod mesnatih pasmina svinja zbog vrlo razvijenog mišićja u odnosu na kapacitet srca i slabije cirkulacije mišići građeni od pretežno bijelih mišićnih vlakana često budu ne dovoljno opskrbljeni kisikom, te brzo ulaze u proces anaerobne glikolize kako bi dobili energije. Prilikom postmortalne glikolize u mišićima dolazi do nakupljanja mliječne kiseline jer proces razgradnje glukoze ne teče do kraja. Nakupljanje mliječne kiseline veće je kod stresno osjetljivih jedinki zbog veće propusnosti iona kalcija iz sarkoplazmatskog retikuluma što uzrokuje produljenje mišićne kontrakcije i ubrzavaju proces razgradnje mišićnog ATP-a i glikogena. Prilikom ovih kataboličkih procesa oslobađa se energija što uzrokuje povišenu tjelesnu temperaturu koja post-mortalno može iznositi i do 40 °C umjesto normalnih 39 °C (Maribo i sur., 1998.).

Senzorsko svojstvo mesa koje najviše utječe na njegov plasman na tržištu je njegova boja. Za boju mesa odgovoran je protein mioglobin koji se također prilikom brzog pada pH vrijednosti uz visoku temperaturu denaturira što rezultira blijedom bojom mesa. Boja mesa procjenjuje se senzorno i instrumentalno. Prema Čobanoviću (2018.) senzorska analiza podrazumijeva usporedbu boje mesa referentnim skalama poput Japanske ili Američke gdje boja varira između vrijednosti 1 i 6 pri čemu 1 predstavlja blijedoružičastu, a 6 tamno-crvenu boju. Prema tim skalama optimalna boja svinjetine je između 3 i 4, no nedostatak ovakve procjene je subjektivnost promatrača. Za instrumentalnu metodu procjene boje mesa koristi se CIELAB

sustav (Karamucki i sur., 2006.) Margeta (2010.) navodi da je L^* vrijednost (svjetlina) iznad 53 dovoljna da se sumnja na BMV meso, a normalna vrijednost bi prema Čobanoviću (2018.) bila između 43 i 53. Kriteriji mogu i varirati obzirom na izvore, pa tako Petrović i sur. (2009.) smatraju da je L^* iznad 50 znak BMV mesa, dok su vrijednosti između 42 i 50 optimalne. Navedeno su u svojim istraživanjima potvrdili i Liu i sur. (2021.) koji su utvrdili prosječni L^* crvenog, čvrstog svinjskog mesa bez eksudata od $46,85 \pm 0,67$.

Uz pH vrijednost i boju mesa kvalitativni pokazatelj koji se mjeri kod procjene BMV mesa je sposobnost vezanja vode mesa (SVV). Voda čini oko 75 % mišića, te se dijeli na vezanu i slobodnu vodu. Vezana voda je prema Karolyiu (2004.b) podložna curenju u obliku iscjetka uslijed promjene strukture mišićne stanice i snižavanja pH, a slobodna voda se ne otpušta odmah, već kada promjene uzrokuju istiskivanje vezane vode dolazi i do otpuštanja slobodne vode. Na SVV utječu mnogi čimbenici povezani sa promjenama nastalim uslijed normalne postmortalne mišićne glikolize ili odstupanjima uslijed genetskih mutacija ili stresa. Jedan od čimbenika koji najviše utječe na SVV u mesu je naboj mišićnih bjelančevina. Izoelektrična točka mišićnih bjelančevina pri kojoj se gubi naboj je pri pH oko 5,2-5,4, kada dolazi do najvećeg otpuštanja vode. Također, obzirom da se voda nalazi u prostorima između miofibrila oni se prilikom pada pH vrijednosti *post mortem* međusobno zbijaju i istiskuju vodu. Denaturacija miofibrila do koje dolazi pri gore opisanom nastanku BMV mesa uzrokuje brzi pad pH vrijednosti *post mortem* uz pojačani izlazak vode iz stanica i smanjenju sposobnost vezanja vode u mesu. Nadalje, na SVV također utječu rasijecanje i veličina dijelova mesa, uvjeti pohrane, zamrzavanje i odmrzavanje. SVV se najčešće mjeri 24 sata *post mortem* nakon skladištenja trupova na temperaturi od +1 do +4 °C. Uzorci mesa se važu i potom stavljaju u specijalne posude koja se mogu potpuno zatvoriti kako ne bi došlo do gubitaka uslijed evaporacije vlage sa površine mesa, te se postupak vaganja ponavlja nakon 48 (i nakon 72 sata) *post mortem* (Čobanović, 2018.) Svinjsko meso se može klasificirati kao BMV kada je težinski gubitak nakon 48 h veći od 5 %.

Liu i sur. (2021.) su u istraživanju pokazali da svinje koje nisu imale BMV meso imale gubitak vode od svega $1,60 \% \pm 0,44$ nakon 24 h i $2,84 \% \pm 0,72$ nakon 72 h, dok su svinje sa BMV mesom imale gubitak vode od $6,96 \% \pm 1,99$ nakon 24 h i $8,12 \% \pm 3,46$ nakon 72 h ($p < 0,05$) (Tablica 1).

Tablica 1. Fizikalna svojstva normalnog u odnosu na blijedo, meko i vodnjikavo meso (BMV).
Table 1 Physical properties of normal meat compared to pale, soft, and exudative (PSE) meat

Svojstvo	Vrijeme, h	Normalno meso	BMV meso
pH	1	$5,88 \pm 0,33^a$	$5,48 \pm 0,16^b$
	24	$5,63 \pm 0,26^a$	$5,51 \pm 0,29^b$
Boja L	1	$42,64 \pm 0,93^b$	$53,27 \pm 2,24^a$
	24	$46,85 \pm 0,67^b$	$56,06 \pm 2,12^a$
Gubitak vode (%)	24	$1,60 \pm 0,44^b$	$6,96 \pm 1,99^a$
	72	$2,84 \pm 0,72^b$	$8,12 \pm 3,46^a$

Izvor: Liu i sur. (2021.)

Stanje i trendovi u Republici Hrvatskoj

U 2020. godini provedene su molekularno genetske analize u populaciji banijske šare svinje, konkretno na 234 uzorka, od toga 44 uzorka tkiva muške i 190 uzoraka tkiva ženske prasid iz legala uzgojno valjanih grla. Između ostalog, provedeno je testiranje prisutnosti recisivnog oblika alela za malignu hipertermiju. Utvrđeno je da su samo 10 od ukupno 234 jedinke bile heterozigoti za navedeno svojstvo što znači da bi u daljnjim križanjima mogli biti nositelji gena za stresnu osjetljivost. Iz tog razloga jedinke su isključene iz daljnjeg uzgoja.

Stresna osjetljivost popraćena simptomima maligne hipertermije prisutna je i u Hrvatskoj te je započeta selekcija svinja pri čemu se nastoji ukloniti recisivni alel n iz populacije u Hrvatskoj. U 2003. provedena su istraživanja u populaciji uzimajući uzorke i analizirajući ih metodom lančane reakcije polimerazom. Prema Čačiću i sur. (2015.) su u Hrvatskoj provedena istraživanja u razdoblju od 2003. do 2014. godine nad 4363 nerasta, od čega su 4147 čistokrvni predstavnici pasmina, a 216 međupasminski križanci ili hibridi. Jedinke koje su testirane pripadaju pasminama landras u najvećoj mjeri, a zatim i pietren, veliki jorkšir i durok. Veliki jorkšir i landras inače nisu pasmine koje su sklone stresnoj osjetljivosti, no u križanjima se koriste u stvaranju rasplodnih krmača podvrgnuti su testiranjima. Također, smanjenjem broja svinja tijekom promatranih godina, sve ih je manji broj testova na genetsku predispoziciju za stresnu osjetljivost.

U izvješću Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu za 2023. godinu objavljeni su rezultati testiranja svinja na stresnu osjetljivost (Tablica 2). Iz rezultata je vidljiva tendencija izlučivanja recisivnog alela n . Selekcija je provedena uspješno, a recisivni alel n prisutan je samo kod heterozigota, te bi se i njih trebalo izlučiti kako ne bi bilo rizika od pojave stresne osjetljivosti kod jedinki. Bez obzira na veliku manu pietrena vezanu za osjetljivost na stres, pietren se u Hrvatskoj i dalje uzgaja zbog svoje mesnatosti te su istraživanja pokazala da je postotak stresne osjetljivosti pietrena smanjen sa 50-60 % koliko je iznosio šezdesetih godina, na 20-30 % u devedesetim godinama prošlog stoljeća zahvaljujući napretku tehnologije i razvoju metoda za otkrivanje stresne osjetljivosti (Uremović i Uremović, 1997.)

Tablica 2. Broj rasplodnih svinja testiranih na stres osjetljivost prema pasmini 2023. godine
Table 2 Number of breeding pigs tested for stress sensitivity by breed in 2023

Pasmina	Genotip						Sve
	NN	%	Nn	%	nn	%	
Durok	23	92	2	8	0	0,00	25
Landras	58	100,00	0	0,00	0	0,00	58
Pietren	20	66,7	10	33,3	0	0,00	30
Veliki jorkšir	27	100,00	0	0,00	0	0,00	27
Durok x Pietren	6	100,00	0	0,00			
Crna slavonska	12	92,3	1	7,7	0	0,00	13
Sve	146	91,8	13	8,2	0	0,00	159

Izvor: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, 2024.

Zaključak

Stresna osjetljivost svinja javlja se pod utjecajem genetskih čimbenika, a razni negenetski čimbenici, poput stresa i postupaka prije klanja mogu predstavljati okidač za njezinu manifestaciju. Očituje se pojavom simptoma maligne hipertermije, BMV mesa, te rjeđe pojavom nekroze leđnih mišića. Simptomi maligne hipertermije su najčešće povišena temperatura, ubrzan rad srca i ubrzano disanje, grčenje mišića, pojava bljedila i crvenila kože, te u najtežim slučajevima i uginuće životinje. Pojava BMV sindroma ozbiljan je problem u mesnoj industriji jer meso zbog smanjenje sposobnosti vezanja vode nije pogodno za preradu u mesne prepravke, dok je u svježem obliku odbojno za kupce zbog svoje blijede boje i pojačanog iscjetka iz mesa. Stresna osjetljivost se selekcijom nastoji korigirati, odnosno iskorijeniti recesivni alel n kojeg heterozigoti prenose na potomstvo, a kod recesivnih homozigota uzrokuje pojavu stresne osjetljivosti. Pri tome se heterozigoti mogu koristiti u završnim križanjima za povećanje mesnatosti svinja. Uz selekciju protiv stresne osjetljivosti, stres kod svinja općenito se nastoji smanjiti strožim zakonima vezanima za dobrobit životinja pri čemu se nastoji izbjeći suvišna patnja i bol kod postupanja sa životinjama. Također, adekvatan prijevoz, mikroklimatski uvjeti na farmama i prijevoznim sredstvima, te postupcima neposredno pred klanje može se smanjiti stres kod svinja, a pri tome i izbjeći negativne promjene na mesu. Trenutno stanje u Republici Hrvatskoj je zadovoljavajuće, s obzirom da laboratorijskim analizama (PCR test) nije utvrđena prisutnost recesivnih homozigota te mali broj heterozigota za gen odgovoran za pojavu stresne osjetljivosti.

LITERATURA

1. Adzitey, F., Nurul, H. (2011.): Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences - a mini review. *International Food Research Journal*, 18:11-20.
2. Čačić M., Orehovalčki V., Zirdum N., Svetić K., Mahnet Ž., Klišanić V. (2015.): Rezultati sustavnog praćenja statusa maligne hipertermije u hrvatskom svinjogojstvu. *Stočarstvo*, 69(3-4): 55-64.
3. Čobanović, N. (2018.): Pre-mortem uslovi i kvalitet mesa svinja, doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.
4. Faucitano, L., Goumon, S. (2018.): Transport of pigs to slaughter and associated handling. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Advances in Pig Welfare*, Woodhead Publishing, 261-293.
5. Fisher P., Mellett, F.D., Hoffman L.C. (2000.): Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality traits from the three halothane genotypes. *Meat Science*, 54:97-105.
6. Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., De Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien, P.J., MacLennan, D.H. (1991.): Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia, *Science*, 253, 5018, 448-451.
7. Garibyan, L., Avashia, N. (2013.): Polymerase chain reaction, *Journal of Investigative Invest. Dermatology*, 133(3):1-4.
8. Gesing, L.M., Johnson, A.K., Selsby, J.T., Feuerbach, C., Hill, H., Faga, M., Whiley, A., Bailey, R., Stalder, K.J., Ritter M.J. (2010.): Effects of presorting on stress responses at loading and unloading and the impact on transport losses from market-weight pigs. *The Professional Animal Scientist*, 26(6): 603-610.
9. Grandin, T. (2010.): Auditing animal welfare at slaughter plants, *Meat Science*, 86 (1):56-65.

10. Jankowiak, H., Cebulska, A., Bocian, M. (2021.): The relationship between acidification (pH) and meat quality traits of polish white breed pigs, *European Food Research and Technology*, 247: 2813-2820.
11. Karamucki, T., Jakubowska, M., Rybarczyk, A., Szaruga, R., Gardzielewska, J., Natalczyk-Szymkowska W. (2006.): Relationship between CIE L* a* b* and CIE L* c* h* scale colour parameters determined when applying illuminant c and observer 2° and illuminant D65 and observer 10°; and proximate chemical composition and quality traits of porcine longissimus lumborum muscle. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 56(2): 129-135.
12. Karolyi, D. (2003.): Geni čimbenici post-mortalnih promjena kakvoće svinjskoga mesa. *Meso: Prvi hrvatski časopis o mesu*, 2:28-30.
13. Karolyi, D. (2004.): Iz literature i prakse: Promjene u kvaliteti mesa svinja. *Meso: Prvi hrvatski časopis o mesu*, 5:18-20.
14. Karolyi, D. (2004.): Aktivitet vode (Aw) kao čimbenik održivosti mesa, *Meso: prvi hrvatski časopis o mesu*, 1:9-13.
15. Lipej, Z. (2015.): Bolesti svinja. Zagreb: Medicinska naklada, 197-200.
16. Lipej, Z. (2016.): Priručnik za svinjogojce, Kako prepoznati, liječiti i spriječiti bolesti svinja, Skaner studio, Zagreb 180-183.
17. Liu, R., Wu, G. Y., Li, K. Y., Ge, Q. F., Wu, M. G., Yu, H., Wu, S. L., Bao, W. B. (2021.): Comparative study on pale, soft and exudative (PSE) and red, firm and non-exudative (RFN) pork: protein changes during aging and the differential protein expression of the myofibrillar fraction at 1h postmortem. *Foods*, 10(4):733.
18. Ludvigsen, J. (1953.): Muscular degeneration in hogs (preliminary report). 25th Int Vet Cong, Stockholm 1: 602-606.
19. Luković, Z. (2001.): Utjecaj kombinacije križanja i Hal gena na proizvodna svojstva križanaca, magistarski rad. Agronomski fakultet, Zagreb.
20. Margeta, V., Kralik, G., Jović, T., Đurkin, I., Margeta, P. (2010.): Povezanost RYR1 gena s proizvodnim i klaoničkim svojstvima svinja. *Krmiva*, 52(1): 35-43.
21. Maribo, H., Olsen, E.V., Barton-Gade, P., Møller, A.J., Karlsson, A. (1998.): Effect of early post mortem cooling on temperature, pH fall and meat quality in pigs. *Meat Science*, 50(1): 115-129.
22. O'Brien, P.J., Ball, R.O. (1999.): Porcine stress syndrome. U: *Diseases of Swine*, Iowa State University, Ames, Sjedinjene Američke Države.
23. O'Brien, P.J. (1986.): Porcine malignant hyperthermia susceptibility: hypersensitive calcium-release mechanism of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Canadian Journal of Veterinarian Research*, 50(3): 318-328.
24. Ollivier, L., Sellier, P., Monin, G. L. (1975.): Déterminisme génétique du syndrome d'hyperthermie maligne chez le porc de Pietrain. *Annales de Génétique et de Sélection Animale*, 7:159-166.
25. Petrović L., Tomović V., Džinić N., Tasić T., Ikonić P. (2009.): Parametri i kriteriji za ocjenu kvaliteta polovica i mesa svinja. *Meat Technology*, 50(1-2):121-139.
26. Pravilnik o zaštiti životinja tijekom prijevoza i s prijevozom povezanih postupaka (2011.). Narodne novine 12/2011.
27. Senčić, Đ., Kralik, G., Jovanovac, S. (1989.): Proizvodna obilježja stres-osjetljivih i stres-rezistentnih tovnih svinja. *Agronomski glasnik*, 51(3):41-48.
28. Senčić, Đ., Samac, D. (2018.): Povezanost stresa svinja s kvalitetom njihova mesa. *Meso: Prvi hrvatski časopis o mesu*, 20(6): 517-528.

29. Topel, D.G., Bicknell, E.J., Preston, K.S., Christian, L.L., Matsushima, C.Y. (1968.): Porcine stress syndrome, *Modern Veterinary Practice*, 49, 40.
30. Torrey, S., Bergeron, R., Widowski, T., Lewis, N., Crowe, T., Correa, J.A., Brown, J., Gonyou, H.W., Faucitano, L. (2013.): Transportation of market-weight pigs: effect of season and location within truck on behavior with an eight-hour transport. *Journal of Animal Science*, 91(6): 2863–2871.
31. Uremović M., Uremović Z. (1997.): *Svinjogojstvo*. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
32. Warriss, P. (2003.): Optimal lairage times and conditions for slaughter pigs: a review. *Veterinary Record*, 153(6):170-6.

PORCINE STRESS SYNDROME - CURRENT STATE AND TRENDS

Summary

Genetically determined stress sensitivity in pigs is one of the most well-known problems encountered in pig meat production and processing. Given the economic importance of pig meat production, efforts are made to avoid this condition, as it can increase mortality rates in the final stage of production and cause issues for the meat industry due to poor meat quality. Such meat is unsuitable for market or processing due to unfavorable physical and chemical characteristics. The aim of the study was to explain the mechanism behind malignant hyperthermia syndrome in stress-sensitive individuals, identify factors contributing to this condition, describe pig breeds susceptible to stress sensitivity, and define the impact of stress sensitivity on meat properties and quality. Additionally, it aimed to propose preventive measures to ensure economically viable pig meat production without losses. Alongside genetic analyses and selection against the mutated RYR1 gene, efforts to reduce stress in pigs also involve stricter animal welfare legislation that ensures proper handling of animals. Providing adequate transport conditions, appropriate microclimatic conditions on farms and in transport vehicles, gentler handling immediately before slaughter, and proper stunning methods can minimize stress in pigs, thereby avoiding negative changes in meat quality. The current situation in the Republic of Croatia is satisfactory. Laboratory analyses have not detected the presence of recessive homozygotes, with only a small number of heterozygotes for the gene responsible for stress sensitivity being identified.

Key words: pigs, stress sensitivity, RYR1, meat quality

Received - primljeno: 11.12.2024.
Accepted - prihvaćeno: 31.12.2024