

Reasumując można stwierdzić, że suplementacja paszy lub stosowanie pozajelitowe preparatów selenowych bądź w połączeniu z witaminą E może przyczynić się do poprawy efektywności produkcji, zarówno w hodowli, jak i w chowie świń.

Literatura: 1. **Bik D.:** Diagnostyka biochemiczna chorób zwierząt gospodarskich. Mat. konf. nauk. Puławy 14-15 grudnia 2000; 2. **Bronicki M., Dembiński Z.:** Medycyna Wet. 47, 464, 1991; 3. **Chavez E.R., Patton K.L.:** Can. J. Anim. Sci. 66, 1065, 1986; 4. **Dębski B.:** Medycyna Wet. 44, 457, 1988; 5. **Dembiński Z., Bronicki M., Wandurski A.:** Medycyna Wet. 48, 164, 1992; 6. **Grela E., Baranowska**

M.: Przegląd Hod. 5, 22, 1993; 7. **Grela E., Sembratowicz J.:** Medycyna Wet. 53, 385, 1997; 8. **Hansen J.C., Deguchi J.:** Acta vet. scand. 37, 19, 1996; 9. **Kossakowski S.:** Medycyna Wet. 35, 4, 1980; 10. **Kotowski K.:** Życie Wet. 73, 229, 1998; 11. **Kubiński T.:** Magazyn Wet., Suplement, Puławy 9-10 czerwca 1998; 12. **Lauk A.:** Życie Wet. 73, 367, 1998; 13. **Ramisz A.:** Nowości Wet. 11, 125, 1981; 14. **Schulz J., Elze K., Gottschalk F., Demmrich K., Stengel S., Berger K., Dreschel B.:** Mh. Vet.-Med. 38, 661, 1983; 15. **Wandurski A.:** Medycyna Wet. 46, 54, 1990; 16. **Wawron W.:** Medycyna Wet. 49, 212, 1993.

Podwyższona wrażliwość świń na czynniki stresowe jako efekt mutacji punktowej w genie RYR – podłoże molekularne i efekt biologiczny

Magdalena Zawada

AR w Krakowie

Gorączka złośliwa (*Malignant hyperthermia*) występuje u zwierząt na skutek przeciążenia organizmu działaniem czynników stresowych, takich jak: podwyższona temperatura otoczenia, nadmierne stłoczenie, poród, transport, intensywne przepędzanie czy bicie (Gronek i wsp., 1998). Natomiast u świń wrażliwych na stres, zjawisko to można także wywołać podając do wdychania środek anestetyczny, np. halotan (Pospiech, 1996). Chorobie tej towarzyszy znaczne pogorszenie jakości mięsa (Gronek i wsp., 1998), tzw. mięso PSE (Baueva i wsp., 1995), oraz obniżenie plenności (Gronek i wsp., 1998; Ostrowski i Blicharski, 1998), a jej objawami mogą być: wzrost temperatury ciała, sinoczerwone plamy na skórze w okolicach uszu i podbrzusza, sztywnienie kończyn, zaburzenia pracy serca i układu oddechowego. Ostatecznie może ona doprowadzić do śmierci zwierzęcia (Gronek i wsp., 1998). Badania genetyczne prowadzone w ostatnim dziesięcioleciu pozwoliły na ustalenie przyczyny schorzenia. Wywołuje go mutacja punktowa w genie receptora rianodynowego, czyli kanału wapniowego retikulum sarkoplazmatycznego (Ryanodine Receptor). Stąd też pochodzi nazwa tego genu – RYR. Zanim odkryto gen RYR nazywano go genem halotanowym (HAL), od nazwy środka powszechnie stosowanego do określania osobników podatnych na stres.

Metody pozwalające na identyfikację osobników podatnych na gorączkę złośliwą

Metoda halotanowa należy do pierwszych metod stosowanych u trzody chlewnej w celu wykrywania osobników wrażliwych na czynniki stresowe (Pospiech, 1996). Polega ona na podawaniu zwierzętom halotanu (2-bromo, 2-chloro,1,1,1-trój-

chloroetan) w postaci narkozy, a reakcja na ten związek występuje w korelacji z uwarunkowaniem genetycznym. Metoda ta pozwala na określenie wrażliwości, jednak bez różnicowania czy osobnik jest homo-, czy heterozygotą (Gronek i wsp., 1998). Ponadto nie jest do końca precyzyjna i nie zawsze prowadzi do jednoznacznego, wiarygodnego wyniku (Pospiech, 1996). Ograniczenia jej wynikają z następujących przyczyn: różnicowanie w stopniu wrażliwości u osobników różnych ras czy linii, a nawet u tego samego osobnika w powtórnych teście, brak wrażliwości na halotan osobników o genotypie HALⁿHALⁿ oraz niektórych osobników o genotypie HAL^NHALⁿ lub nawet HAL^NHAL^N. Wymagane jest też określenie wieku zwierząt (8-12 tygodni) oraz konieczność analizy całych miotów. Nie bez znaczenia jest, iż test halotanowy prowadzi niekiedy do śmierci zwierzęcia. Dlatego też obecnie odchodzi się od metody halotanowej, stosując w zamian inne, pozwalające na precyzyjne określenie genotypu (Kurył, 1996).

Metoda PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism), opracowana w 1991 roku w Kanadzie (Fuji i wsp., 1991), należy obecnie do najbardziej wiarygodnych i najczęściej stosowanych metod. Pozwala ona na określenie i rozróżnienie genotypów NN, Nn oraz nn (Ostrowski i Blicharski, 1998), a co za tym idzie, służy do wykrywania nosicieli zmutowanego, niekorzystnego allelu (Charon i Świtoński, 1996). W badaniu wykorzystuje się izolację genomowego DNA z różnych tkanek, a następnie przeprowadza typową reakcję PCR przy użyciu primerów (sensownego i antysensownego) oraz termostabilnej polimerazy DNA. Amplifikacja (standardowo przez 40 s) → denaturacja łańcucha DNA (w temp. 95°C) → przyłączenie primera (w temp. 60°C przez 30 s) → synteza nowo powstałego łańcucha DNA (w temp. 72°C). Następnie poddawanie produktu PCR trawieniu enzymem restrykcyjnym HhaI w celu uzyskania fragmentów łańcucha, gdzie uwidocznione są mutacje genetyczne (Houde i Pommier, 1993; Pospiech, 1996; Charon, 1997). Powstałe fragmenty identyfikuje się po rozdiale elektroforetycznym. Pomimo stosunkowo wysokich kosztów związanych z tą metodą, jej zaletą jest niewielka ilość materiału użytego do badań oraz bardzo duża powtarzalność i wiarygodność.

Reasumując, metoda PCR-RFLP jest bardzo efektywna, ponieważ:

- pozwala bezpośrednio określić wszystkie genotypy wrażliwości na stres;
- badane zwierzęta mogą być w podobnym wieku, bez konieczności testowania rodziców i rodzeństwa;
- jako materiał do badań wystarcza 50-100 µl krwi (Kurył, 1996).

Prawie 100% skuteczność identyfikacji genotypów zwierząt stwarza możliwość konstruowania nowatorskich progra-

mów hodowlanych, tak aby w konsekwencji pozyskiwać materiał o stosunkowo wysokiej zawartości chudego mięsa w tuszy, o dobrej jakości (Koćwin-Podsiadła, 1998).

Charakterystyka genu RYR

Receptor rianodynowy należy do rodziny genów kanałów wapniowych wykazujących ekspresję w różnych tkankach. Jego nazwa pochodzi od alkaloidu roślinnego rianodyny, który bardzo dobrze wiąże się ze strukturą kanału, dzięki czemu został wyodrębniony (Sutko i wsp., 1985). Receptor ten zbudowany jest z kilku podjednostek i tworzy duży kanał w kształcie rozety przewodzący kationy. Gen RYR należy do jednej z podjednostek kanału wapniowego i zaliczamy go do tzw. genów głównych, warunkujących jakość mięsa i podatność zwierząt na stres (Otsu i wsp., 1991; Kurył i wsp., 1995).

Wyróżnia się trzy izoformy genu RYR: RYR1, RYR2 i RYR3, w zależności od rodzaju tkanki. RYR1 zidentyfikowano w komórkach mięśni szkieletowych i przetyku, RYR2 – w komórkach mięśnia serca, aorty i przetyku, a RYR3 – w komórkach mięśni szkieletowych i mięśnia serca, aorticie, przetyku, nadnerczach i płucach (Ledbetter i wsp., 1994). Promotor tego genu nie zawiera sekwencji TATA box, a w aktywacji transkrypcji istotną rolę pełnią elementy bogate w C i G. W regionie promotora RYR występuje kilka takich elementów i są one homologiczne do czynnika transkrypcyjnego Sp1 (Schmoelz i wsp., 1996).

Dzięki metodzie PCR odkryto molekularne podłoże gorączki złośliwej. Jej przyczyną jest drobna mutacja punktowa w genie RYR1 (Fuji i wsp., 1991; Kurył i wsp., 1995), powodująca podstawienie T→C w pozycji 1843 w sekwencji cDNA, czego wynikiem jest powstawanie cysteiny zamiast argininy w pozycji 615 receptora rianodynowego (Cys⁶¹⁵→Arg⁶¹⁵). Mutacja ta odpowiedzialna jest za powstanie recesywnego allelu wywołującego w układzie homozygotycznym hipertermię złośliwą (Charon i Switoński, 1996). Należy jednak dodać, iż omawiana mutacja jest jednym z kilku czynników odpowiedzialnych za występowanie wady PSE w wieprzowinie, gdyż zdarza się, że niektóre zwierzęta z mutacją T→C wykazują po uboju prawidłowe parametry mięsności (Kurył i wsp., 1995). Powyższa mutacja została zidentyfikowana u pięciu głównych ras świń w USA: amerykańskiej krajowej, yorkshire, duroc, pietrain i polsko-chińskiej (O'Brien i wsp., 1993). Wyniki testów DNA wykazały jednak, że najwyraźniej ujawnia się ona zarówno w homozygotyce nn, jak i heterozygotyce Nn u takich ras, jak: pietrain – 84,62%, amerykańska krajowa – 64,10% oraz u mieszańców – 52,86%, przy czym frekwencja homozygot wyższa jest u rasy pietrain – 73,08% (Bauevova i wsp., 1995).

Poszukiwania markerów krwi pozwalających na identyfikację genu RYR1 u czterech ras świń: duroc, hampshire, landrace oraz yorkshire wykazały, że gen ten jest sprzężony z 5 innymi loci kontrolującymi polimorfizm, zlokalizowanymi na chromosomie 6 (Paszek i wsp., 1995; Switoński, 1998). Są to: enzymy erytrocytarne – Pgd (dehydrogenaza 6-fosfoglukonianu) i Phi (izomeraza fosfoheksyzy), A1bg – glikoproteiny osocza krwi, antygeny erytrocytarne układu H oraz locus supresorowy S, determinujące ekspresję antygenów układu grupowego krwi A-O (Koćwin-Podsiadła i wsp., 1993; Kurył i wsp., 1994). W loci Pgd oraz Phi rozróżnia się dwa allele: A i B (Gahne i Juneja, 1985). Frekwencja Phi A jest bardzo niska u osobników rasy duroc, a większość z nich posiada genotyp Phi B. Rasa yorkshire wykazuje wyższą frekwencję

Phi AB i konsekwentnie niższą Phi B. U badanych osobników genotyp Pgd jest napotykaną najczęściej, za nim Pgd A i najrzadziej Pgd B. Ponadto, genotyp Pgd A jest najrzadszy u rasy duroc, a najczęstszy u rasy landrace. Pgd B natomiast, napotyka się częściej u rasy duroc niż u innych ras (Houde i wsp., 1993). Przy czym dystrybucja owych markerów w obrębie genu RYR1 nie wykazuje wyraźnego związku. Większość heterozygot rozłożona jest pomiędzy haplotypy Pgd, natomiast genotyp Phi AA posiada wyższą proporcję w heterozygotach i jest tam relatywnie mało Phi A. Powyższe badania potwierdzają zatem, iż wykorzystanie markerów krwi jest bardzo mało użyteczne do wykrywania nosicieli genu halotanowego RYR1 (Houde i Pommier, 1993).

Biologiczne efekty mutacji w genie RYR

Wysoka frekwencja genu RYR1 występuje u wysokomięsnych, wyhodowanych w Belgii, świń pietrain (80-100% zwierząt wrażliwych), różnych linii landrace: belgijski i niemiecki (30-80% zwierząt wrażliwych), szwajcarski (20% zwierząt wrażliwych) i szwedzki (15% wrażliwych), a także mieszańców uzyskanych z udziałem landrace (Koćwin-Podsiadła i wsp., 1993). W związku z tą obserwacją, gen RYR1 nazywany jest niejednokrotnie „genem mięsności”, ze względu na szczególnie wysokie parametry zawartości mięsa w tuszy.

Mutacja w genie RYR1 doprowadza do zmiany sekwencji aminokwasów białek, następstwem czego jest defekt w czynności błony komórkowej w transporcie jonów wapnia, szczególnie pod wpływem stresu (Ostrowski i Blicharski, 1998). W konsekwencji dochodzi do przegrzania organizmu, co powoduje metaboliczną kwasicę i może doprowadzić do śmierci (Gronek i wsp., 1998). Innymi słowy, symptomy kliniczne tej choroby są charakteryzowane jako deficyt tlenu, czego następstwem jest szybka glikoliza, a zaraz potem produkcja kwasu mlekowego i kwasica (Wendt i wsp., 2000). Okazało się, że za hiperwentylację kanału wapniowego odpowiedzialny jest brak argininy (Gronek i wsp., 1998), czego konsekwencją jest zaburzenie homeostazy jonów Ca²⁺ we włóknach mięśniowych (Monnier i Lunardi, 2000). Jednocześnie, w efekcie działania czynników stresowych (Garcia-Macias i wsp., 1996; Gronek i wsp., 1998) następuje wysokie zakwaszenie mięsa, czego objawem jest jego błada barwa oraz niska wodochłonność (Koćwin-Podsiadła i wsp., 1993; Garcia-Macias i wsp., 1996; Switoński, 1998). Mięso PSE charakteryzuje także szybsze tempo rozkładu ATP (R₄₅) w porównaniu z mięsem o parametrach prawidłowych (Koćwin-Podsiadła i Przybyłski, 1998).

Ponadto, zaobserwowano różnice we wzroście zwierząt pozytywnych i negatywnych (Leach i wsp., 1996). Luescher i wsp. (1979) stwierdzili, że osobniki wrażliwe na halotan rosną szybciej niż niewrażliwe; natomiast Jensen i Barton-Gade (1985) wykazali wyższy dzienny przyrost masy ciała u osobników negatywnych. Jeśli chodzi o rasę polską białą zwistouchą, większy dzienny przyrost zaobserwowano u osobników o genotypie NN niż u Nn, także grubość słoniny grzbietowej była większa w przypadku genotypu NN niż Nn (Kapelański i wsp., 1998). Wykazano również, iż osobniki o genotypie NN charakteryzuje wyższa odporność na stres, a co za tym idzie nie występuje u nich mięso PSE, posiadają niższą zawartość tłuszczu w mięśniach i wyższy procent mięsa chudego (Bećkowska i David, 1999). Kapelański i wsp. (1999) uważają, że istotne różnice w korelacji pomiędzy wydajnością rzeźną i cechami mięsności występują tylko jako efekt genu RYR1, pod-

czas gdy relacje pomiędzy wzrostem i jakością mięsa występują jako luźna zależność.

Powyższe wady dotyczą najczęściej najbardziej wartościowych partii mięśni, tj. schabu i szynki, pochodzących od zwierząt ras wybitnie mięsnych. Jak już wspomniano, obecnie mięso PSE stwierdza się u 15-40% pogłowia świń w krajach o rozwiniętej hodowli. Szczególnie duże nasilenie tego zjawiska pojawia się w Bawarii, a więc w regionie Niemiec o wysokiej kulturze hodowlanej. W USA w ostatnich latach stwierdzono, że więcej niż połowa wybranych przypadkowo szynek, które pochodziły z 14 różnych rzeźni, ma niepożądaną cechy jakościowe. Wysoka częstość występowania mięsa wadliwego dotyczy nie tylko wybitnie mięsnych ras zagranicznych, ale również ras krajowych, np. p.b.z. (Koćwin-Podsiadła, 1998).

Dzisiejsza wiedza dotycząca tej uciążliwej wady, jej podłoża genetyczne, fizjologia oraz patofizjologia skłania niektórych autorów do konkluzji, iż należy wyeliminować mutację genu RYR z populacji świń, poprzez pozytywną selekcję zdrowych osobników (Koćwin-Podsiadła i wsp., 1999; Wendt i wsp., 2000). Również zdaniem wielu technologów, najlep-

szą drogą poprawy jakości mięsa jest przeciwdziałanie czynnikom, które powodują lub sprzyjają występowaniu tej wady (Koćwin-Podsiadła, 1998). Jednak niektórzy autorzy uważają, iż gen ten należy utrzymać w populacji zwierząt, ponieważ zapewnia korzystne parametry umięśnienia tuszy i ogranicza jej otluszczenie (Kurył, 1996; Pospiech, 1996).
37 pozycji literatury do wglądu u Autorki i w Redakcji



Małopolski Ośrodek Doradztwa Rolniczego w Krakowie z/s Karniowicach
Oddział w Nawojowej
organizuje regionalną wystawę rolniczą

agro PROMOCJA 2001

Termin wystawy: 8 - 9 września 2001 r.

Miejsce wystawy: obiekty Zespołu Szkół Rolniczych i MODR Oddział w Nawojowej

Zapraszamy wystawców, którzy chcieliby zaprezentować swoje wyroby i usługi związane z branżami:

- Maszyny oraz urządzenia do produkcji rolnej, ogrodniczej i przetwórstwa rolno-spożywczego
- Środki do produkcji rolnej, krzewy owocowe i ozdobne oraz kwiaty
- Rzemiosło i rękodzieło ludowe
- Technologie i materiały budowlane

Zapraszamy również wystawców, którzy chcieliby zaprezentować inne wyroby i usługi związane z rolnictwem

Zainteresowane firmy udziałem w wystawie prosimy o kontakt do 20 sierpnia 2001 roku z

Małopolskim Ośrodkiem Doradztwa Rolniczego w Krakowie z/s Karniowicach
Oddział w Nawojowej k/ Nowego Sącza
33-335 Nawojowa 1

Tel./fax (0 18) 445-72 76, 445-70-36, 445-70-39

e-mail: modr_nawojowa@ns.medianet.pl.

Klub Turystyki Jeździeckiej PTTK *LASZKA* w Wojnowie wraz z Sekcją Hodowców Koników Polskich organizują Święto Konika Polskiego pod hasłem „**KONIK POLSKI – TWÓJ PIERWSZY KONIK**”.

W programie znajdują się między innymi:

- konkursy: fotograficzny *Konik w obiektywie* i plastyczny;
- zabawy dla dzieci i dorosłych;
- przejażdżki bryczką i wierzchem;
- WKKP, czyli wszechstronny konkurs konika polskiego;
- ognisko i zabawa z zespołem *Koniokrady*.

Można też będzie obejrzeć filmy wideo o konikach polskich oraz nabyć „konikowy” sprzęt jeździecki, pamiątki, książki i wiele innych rzeczy.

Głodni i spragnieni będą mogli zaspokoić swoje potrzeby w przygotowanych różne dania bufetach.

Spotkanie rozpocznie się gawędą o koniku polskim dr Zbigniewa Jaworskiego, 18 sierpnia 2001 roku, w sobotę o godz. 16⁰⁰.

Miejsce spotkania – teren Szkoły w Wojnowie.

Liczymy na Państwa udział w imprezie, która ma być spotkaniem obecnych hodowców i pasjonatów z przyszłymi miłośnikami tej rasy.

Z POZDROWIENIAMI – ORGANIZATORZY!!!

Prace na konkurs plastyczny i fotograficzny prosimy wysyłać do 31 lipca 2001 roku na adres: **Szkoła w Wojnowie; 12-210 Ukta.**

Wszelkich informacji udzielamy pod numerem telefonu: 0-87/42-57-206