

## ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

**СТРЕС СИНДРОМ (PSS) И ФИЗИКОХИМИЧЕН СЪСТАВ НА M. LONGISSIMUS DORSI ПРИ СВИНЕ ОТ ИЗТОЧНОБАЛКАНСКАТА ПОРОДА**

**Радостина Стойкова-Григорова, Катерина Стефанова\*, Живко Накев\*\*,  
Иван Атанасов\*, Мая Игнатова, Пенка Маринова**

*Институт по животновъдни науки – Костинброд*

*\*Агробиоинститут – София*

*\*\*Земеделски институт – Шумен*

E-mail: rstoikova@abv.bg

## РЕЗЮМЕ

Стрес чувствителността при свинете се свързва с проява на бледо, меко и ексудативно (PSE) месо, което е със занижени вкусови и технологични характеристики. Целта на настоящето изследване е да се направи генотипиране по рианодин рецепторния ген и анализ на физикохимичния състав на m. Longissimus dorsi при свине от автохтонната Източнобалканска порода. Генотипирането на включените в експеримента животни по RYR1 ген е извършено по метода PCR-RFLP. Геномната ДНК е изолирана от космена луковица на 32 животни от две стада. Анализите показаха наличие само на хомозиготни по доминантен алел (N) индивиди. Не е наблюдавана мутация на RYR1 гена (рецесивен алел n) и тестваните животни са негативни за porcine stress syndrome. Установена е фенотипна проява на бледо, меко, ексудативно месо в m. Longissimus dorsi при Източнобалканската порода свине след предизвикан стрес, който е с негенетичен произход.

**Ключови думи:** Източнобалканска порода, рианодин рецепторен ген, стрес синдром

Източнобалканската порода е единствената официално призната автохтонна порода свине в България (Марчев и кол., 2012). Редица изследователи на породата съобщават за висока приспособимост към условията в различни агроекологични райони и за възможности за екологично производство на месо, с по-добри вкусови качества, както и на традиционни месни продукти (Стойков и кол. 1992; Накев и кол. 2012). В миналото породата е била обект на стихийно кръстосване с високопродуктивни породи и броят на животните, типични представители на породата, драстично намалява. Някои от бащините породи, използвани при кръстосването, се характеризират с висока или значителна стрес чувствителност (Пиетрен и Ландрас),

като за установяването ѝ през 80–90 години на миналия век е прилаган т.н. халотанов тест. (Стефанова и кол., 1990; Марчев и кол., 2012). Стрес чувствителността при свинете се свързва с проява на бледо, меко, ексудативно (PSE) месо, което е със занижени вкусови и технологични характеристики (Du, 2001).

С изследванията на ниво ДНК е установено, че стрес синдромът при свинете се дължи на мутация в рианодин рецепторния ген (известен и като Hal ген), който се счита за „кандидат“ главен ген, свързан с качеството на кланичния труп и на месото (Fujii et al., 1991).

Наличието на PSE месо може да се дължи и на редица средови ефекти, като висока температура, транспорт, предкланичен стрес

и др., които могат да бъдат причина за неговата фенотипна поява (Sellier, 1998; Lee et al., 1999). С прилагане на молекулярните методи на анализ стана възможно разграничението на генетичните от негенетичните фактори, свързани с появата на PSE месо при свинете.

Целта на настоящето изследване е да се направи генотипиране по рианодин рецепторния ген и анализ на физикохимичния състав на *m. Longissimus dorsi* при свине от автохтонната Източнобалканска порода.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проучването е проведено с 32 животни от две стада, отглеждани в два района в България (Бургаска и Шуменска област). За стадото от Шуменска област извадката е по 8 бр. женски и мъжки кастрирани прасета.

Свинете са отглеждани при традиционни за породата условия – свободно на паша, с подхранване (Наредба №6/20.03.2007). Живото тегло на прасетата е в границите от 95 до 100 kg. Клането е извършено след 40 km транспорт и 12-часова почивка в регламентирана кланица, при спазване на ветеринарните изисквания за клане на животни от тази порода.

Биологичните проби са взети от гърба и плешката на животните (50–60 косъма) и са съхранявани в стерилен контейнер при +4°C.

Генотипирането на включените в експеримента животни по RYR 1 ген е извършено по метода PCR - RFLP. Анализът е проведен в лабораторията на Агробиоинститут, София, и включва следните стъпки:

### 1. Изолиране на геномна ДНК.

Геномната ДНК на включените в изследването животни е изолирана от космена луковица с помощта на комерсиален кит Blood-Animal-Plant DNA Preparation Kit (Jena Bioscience) по оригиналния протокол на производителя. Оценката на количеството и качеството на изолираната ДНК е измерено УВ-спектрофотометрично.

### 2. Полимеразно верижна реакция (PCR анализ) на RYR 1 ген.

За амплифициране на RYR 1 гена чрез полимеразна верижна реакция (PCR) са използвани следните праймери: fw: 5'- TCC AGT TTG CCA CAG GTC CAT ACC A - 3' и rev 5'- ATT CAC CGG AGT GGA GTC TCT GAG - 3'. Реакционната смес с краен обем 15 µl е приготвена чрез китове за PCR амплификация, съдържащи всички необходими компоненти (Taq полимераза, буфер, dNTPs, MgCl<sub>2</sub>, ddH<sub>2</sub>O). Процесът на PCR амплификация (намножаване) е извършен в Mastercycler-Eppendorf при следните условия: първоначална денатурация – 94°C за 3 min, допълнителна денатурация – 94 °C за 10 min, амплификация – 57°C за 40 sec, слепване на фрагментите - 72°C за 10 s, повторение на цикъла – от стъпка 2 до стъпка 4 – 34 пъти, допълнителна амплификация - 72°C за 3 min, съхранение при 4°C.

### 3. Полиморфизъм на рестрикционните фрагментни дължини (PCR - RFLP анализ) на RYR 1 ген.

Рестрикционният анализ за установяване на полиморфизми по дължина на рестрикционните фрагменти (RFLP) е проведен чрез използването на рестрикционна ендонуклеаза HhaI, като пробите са инкубирани в термостат на 37°C за 4 часа.

Идентификацията на получените фрагменти след PCR амплификацията и след Рестрикционния анализ е извършена чрез електрофореза на 2% и съответно на 2,5% агарозен гел, наситен с флуоресцентно багрило RedGel. Получените гелове са наблюдавани на трансилюминатор под UV-лъчи. По броя и дължината на наблюдаваните фрагменти са определени съответните генотипове на животните. За точното определяне на дължината на фрагментите в базови двойки (bp) е използвана ДНК контрола – DNA Ladder, 100 bp.

Физикохимичният анализ е извършен в лаборатория по месото към Институт по животновъдни науки – Костинброд. Пробите от *m. Longissimus dorsi* (*m. LD*) са взети от 16 жи-

вотни, след съхранение на кланичните трупо-  
ве 24 h post mortem (p. m.) при 4°C. Определе-  
ни са следните показатели: рН 45 min p.m. с  
рН-метър с комбиниран електрод, 24 h p.m.;  
протеин (Келдал); интрамускуларни мазнини  
(Сокслет); миоглобин (Hornsey, 1956); водос-  
вързваща способност ВСС (Grau and Hamm,  
1952); цвят (R/525nm, спектрофотометрично);  
влага и пепел (АОАС, 1990). След измерване-  
то на рН 45 min p.m. на пробите са формирани  
две групи – 11 животни, които са с рН > 6,00,  
и 5 животни с рН ≤ 6,00 (PSE месо).

Статистическата обработка на резултати-  
те, получени от ДНК – анализите, включва  
изчисляването честотите на алелите и съот-  
ветните генотипове на животните по RYR 1  
гена чрез програмата GENALEX.

Резултатите от физикохимичния състав  
на m. LD са обработени по метода на вари-  
ационната статистика.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените резултати след проведената  
Полимеразноверижна реакция (PCR) са  
представени на фиг. 1. При всички анализи-  
рани животни се получиха амплифицира-  
ни PCR продукти на RYR 1 ген. Редица ав-  
тори (Bastos et al., 2000; Tăbăran et al., 2000;  
Davalos-Aranda et al., 2010; Stanišić et al., 2012)  
публикуват данни за намножаване на проуч-  
вания локус с различни праймери двойки,

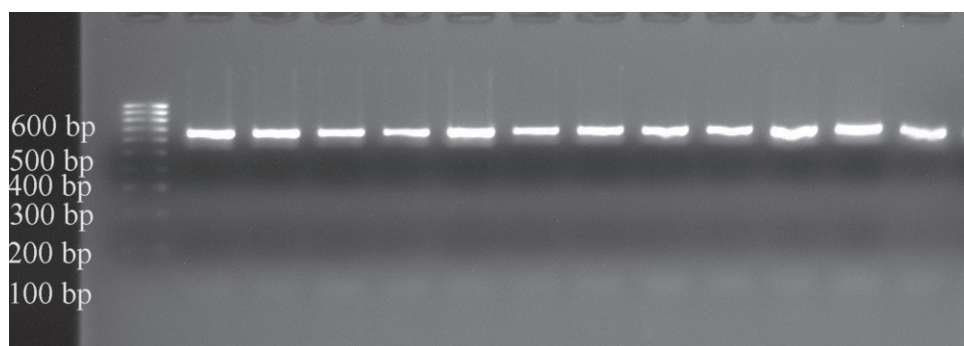
които обхващат участъци от гена с големина  
от 81 до 660 bp. В това изследване е избра-  
на праймерна двойка, която да амплифицира  
фрагменти с дължини от 660 bp, които се ви-  
зуализират най-добре на агарозен гел.

На база на многобройни генетични проуч-  
вания (Didion et al., 2000; Hebinck et al., 2000;  
Kim et al. 2001; Kuiper et al., 2001; Davoli et  
al., 2002) е направено картирането на генома  
при свинете и е установено, че рианодин ре-  
цепторният ген е локализиран близо до цен-  
тромера на по-дългото рамо на 6<sup>-та</sup> хромо-  
зома, като за стрес синдрома при свинете е  
отговорна мутация в точката R615C на RYR  
1 гена в скелетната мускулатура (Fujii et al.,  
1991; Mac Lennan and Philips, 1992). RYR 1 ге-  
нът продуцира два алела – доминантен N и  
рецесивен n, отговорни съответно за устой-  
чивост и за чувствителност към стрес. Стрес  
чувствителните индивиди са с рецесивен хо-  
мозиготен генотип (nn), докато другите два  
генотипа – хомозиготен доминантен (NN) и  
хетерозиготен (Nn), обуславят устойчивост  
към стрес (Tăbăran et al., 2000).

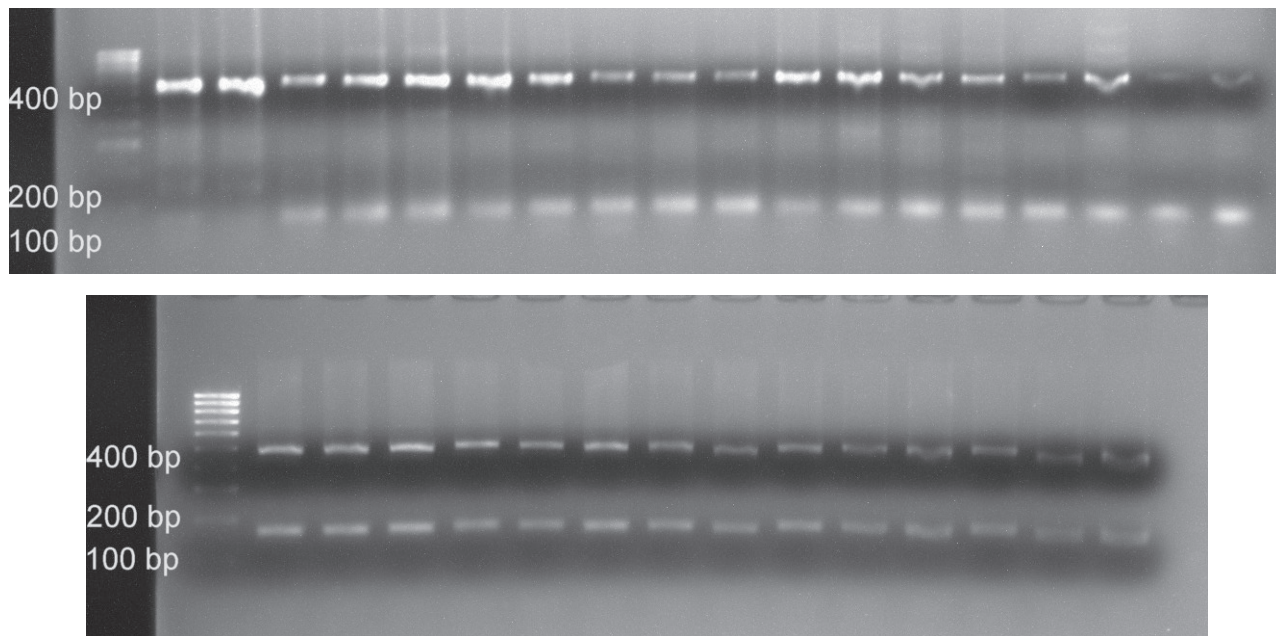
След направения PCR-RFLP анализ на  
пробите се наблюдават фрагменти със след-  
ните дължини за генотип NN – 494 bp и 166  
bp (фиг. 2).

Честотите на генотиповете и алелите от  
проучвания локус при изследваните стада са  
представени на табл. 1.

При тестираните 32 животни е установен  
само доминантния алел на RYR 1 гена. Не е



**Фиг. 1.** PCR продуктите след амплификацията на RYR 1 ген, визуализирани на 2% агарозен гел  
**Fig. 1.** PCR products of RYR 1 gene, after amplification, visualized in 2% agarose gel



**Фиг. 2.** Резултати от проведения PCR-RFLP анализ на RYR 1 ген, визуализирани на сегментите на 2,5% агарозен гел след фрагментиране на пробите с рестрикционна ендинуклеаза HhaI

**Fig. 2.** Results of PCR-RFLP analysis of RYR 1 gene segment digested with the restriction endonuclease HhaI, visualized in 2.5% agarose gel

**Таблица 1.** Честота на генотиповете и алелите на RYR 1 (HAL) ген в изследваните свине от Източнобалканска порода (n = 32)

**Table. 1.** Genotypes and alleles frequencies of RYR 1 (HAL) of the studies pigs from the East Balkan breed (n = 32)

Ген / Gene	Генотипове / Genotypes	Честоти / Frequencies	Алели / Alleles	Честоти / Frequencies
RYR 1 (HAL)	NN	1 (100%)	N	1 (100%)
	Nn	0	n	0
	nn	0	-	-

наблюдавана мутация на RYR 1 (рецесивен алел n) гена и тестваните животни са негативни за porcine stress syndrome.

Получените резултати са еднопосочни с тези на Stanisic et al. (2012). Авторите определят присъствието на PSS гена при сръбската автохтонна порода Мангалица и правят извод, че породата е негативна за този ген. В други проучвания също се съобщава за отсъствието на „стрес ген“ в месни популации свине от породата Мангалица в Румъния (Ciobanu et al., 2001).

В проведени у нас изследвания с прасета от Източнобалканската порода е установено наличие на стрес синдром при 7,17%, след провеждане на халотанов тест, като има случаи и на бледо ексудативно месо (Стефанова и кол., 1990).

Интересът към отглеждането на месните породи свине в различните страни се увеличава не само към запазването им като национален генетичен ресурс, но и за органично производство на месо и традиционни месни продукти. В тази връзка, редица автори съобща-

ват за различия във физикохимичния състав на м. LD при Мангалицата, отглеждана в Сърбия и Унгария – по-ниско съдържание на влага (68–70%), по-високо на протеин (22–24%) и на интрамускуларни мазнини (5,45–9,7%), в сравнение с културните породи свине (Petrovic et al., 2012; Kovacs et al., kovacs.agnes@ohki.hu).

Резултатите от това изследване на физикохимичния състав на м. LD показват, че те значимо се различават по стойност от горепосочените показатели (табл. 2), но са близки с тези за рН 45 min на групата с рН > 6,00. Съдържанието на протеин и мазнини е по-ниско, в сравнение с резултатите, получени от Дойчев и кол. (2013) за Източнобалканската порода прасета, отглеждани на паша с подхранване, съответно 21,68% и 5,93%.

Генотипирането на животните по RYR 1 ген, включително и на тези, от които са взетите проби за физикохимичния анализ на месото, показва отсъствие на рецесивния алел *p*, свързан с появата на PSE месо. Наличие на този тип месо е установено при 31,2% от изследваните проби, определено по стойности-

те на рН ≤ 6,00, 45 min p.m. Промените при спадане на рН на месото са резултат от post mortem метаболизма в мускулната тъкан и преобразуването на гликогена в млечна киселина. Рязкото спадане на рН при все още висока температура на кланичния труп води до денатурация на мускулните протеини, което се свързва с намаление на ВСС и по-светъл цвят на месото. Установените стойности на 45 min p.m. при една от групите са с PSE месо, които са в горната граница за този тип месо (рН ≤ 6,00), тъй като типичното PSE месо се характеризира с малко по-ниски стойности ~ 5,8–5,7. Разликите между групите за този показател са достоверни ( $p < 0,001$ ) и достатъчни да окажат достоверен ефект за намаление на ВСС ( $p < 0,05$ ) и тенденция за по-светъл цвят на м. LD. Близките стойности за съдържание на мазнини и миоглобин между групите са показателни, че тенденцията за по-светлия цвят на мускула е резултат от промените в рН 45 min p.m. Показателите рН 24 h p.m., съдържание на протеин и пепел са в нормални граници за този вид месо.

**Таблица 2.** Физикохимични свойства на м. Longissimus dorsi на прасета от Източнобалканската порода (n = 16)

**Table 2.** Physicalchemical traits of m. Longissimus dorsi pigs from the East Balkan breed (n = 16)

Групи / Groups Показатели / Traits	рН > 6,00 (n = 11)			рН < 6,00 (n = 5)			Достоверност / Significancy
	$\bar{X}$	$\bar{S}_x$	CV	$\bar{X}$	$\bar{S}_x$	CV	
рН 45 min p.m.	6,24	0,03	1,53	5,94	0,01	0,41	***
рН 24 h p.m.	5,74	0,04	2,41	5,66	0,09	3,80	n. s.
Цвят, (R/525 nm) / Colour, (R/525nm)	28,62	0,77	6,04	30,77	0,62	3,48	n. s.
ВСС, % / WHC, %	38,40	0,48	2,81	41,41	0,20	0,83	**
Влага, % / Moisture, %	74,17	0,43	1,83	74,29	0,50	1,66	n. s.
Миоглобин, mg/g / Myoglobin, mg/g	1,59	0,10	20,72	1,60	0,18	27,05	n. s.
Мазнини, % / Fats, %	3,24	0,32	31,24	3,83	0,45	28,75	n. s.
Протеин, % / Protein, %	20,44	0,28	4,28	19,84	0,32	3,96	n. s.
Пепел, % / Ash, %	1,09	0,06	17,76	1,06	0,02	3,67	n. s.

Достоверност на резултатите между групите:  $p < 0,01$  - \*\*;  $p < 0,001$  - \*\*\*

Significant results between groups:  $p < 0.01$  - \*\*;  $p < 0.001$  - \*\*\*

Получените резултати за физикохимичния състав на *m. LD* показват наличие на стрес при част от животните, който не се дължи на мутация в *RYR 1* гена. Подобни резултати за предизвикан стрес и появата на PSE месо при транспорт и предкланичен престой на прасета са установени от Gardin (1993) и Karsson et al. (1992). Lee et al. (1999) съобщават за наличие на този тип месо в резултат на температурен (22–46%) и на предкланичен (16,8–25,9%) стрес.

За появата на PSE месо при Източнобалканската порода прасета допринася и по-дебелата гръбна сланина, като забавя охлаждането на кланичния труп и спомага за денатурацията на мускулните протеини. По данни на Накев и кол. (2012), при тази порода – на 91 kg живо тегло дебелината на сланината достига 57,71–64,60 mm (сума SKL2).

Генотипирането по *RYR 1* ген на прасета от Източнобалканската порода показва отсъствие на животни, носители на рецесивния алел *n*, и всички тествани животни са негативни по porcine stress syndrome (PSS), поради което допускаме, че средови фактори са оказали ефект за положителната реакция за стрес чувствителност (халотанов тест), установена в предходни наши проучвания (Стефанова и кол., 1993). Подобни резултати са получени и от Jovanović et al. (2005) при анализи за мутация на *RYR 1* локус на 56 диви свине. Те установяват, че всички индивиди са били с нормален *CC* генотип при *nt 1843*, докато при тестване с халотанова анестезия 6 от тях са били с фенотипна проява на стрес чувствителност.

Получените резултати от изследването са показателни за необходимост от мерки за ограничаване факторите на средата, които могат да предизвикват появата на стрес синдрома и неблагоприятна промяна във физикохимичния състав на месото при прасета от Източнобалканската порода.

## ИЗВОДИ

Анализите от генотипираните по локуса на *RYR 1* ген прасета от две стада на Из-

точнобалканска порода показаха наличие само на хомозиготни по доминантен алел (*N*) индивиди.

Не е наблюдавана мутация на *RYR 1* (рецесивен алел *n*) гена и тестваните животни са негативни за porcine stress syndrome.

Установена е фенотипна проява на бледо, меко, ексудативно месо в *m. Longissimus dorsi* при Източнобалканската порода свине след предизвикан стрес, който е с негенетичен произход.

## ЛИТЕРАТУРА

**Дойчев, В., Ст. Стефанова**, 2013. Химичен състав на месото и мастнокиселинен състав на вътремускулните липиди при Източнобалкански свине. *Животновъдни науки*, L, 3, 17-28

**Марчев, Й., Ж. Накев, Р. Недева и Н. Палова**, 2012. Източнобалканската свиня. Издателство „Юни Експрес“ ООД, Шумен.

**Накев, Ж., Й. Марчев, Р. Недева, Н. Палова, Е. Гинева**, 2012. Състав на трупа при свине от Източнобалканската порода свине, отглеждани по традиционна технология. I. Състав на трупа на свине от Източнобалканската порода, отглеждани в различни региони на страната. *Селскостопанска наука*, 45 (№ 5-6), 20-24

**Стефанова, С., М. Михайлова, П. Маринова, Ст. Сланев и А. Стойков**. 1993. Количество и качество на екологично чисто месо от Източнобалканската порода в зависимост от реакцията към халотана и АКГХ взаимодействието. *Международен симпозиум „Екология“*, 44-99, Бургас.

**Стефанова, Ст., В. Бялков, К. Ангелов, С. Николова**, 1900. Стрес-чувствителност при свине от Източнобалканската порода, развъждани в Странджа. *Животновъдни науки*, 3, 23-29

**Стойков, А., С. Сланев, Ст. Стефанова, В. Бялков, Е. Гинева**, 1992. Предимства на пасищните породи свине при производството на повече и екологически чисто месо. *Международен симпозиум „ЕКОЛОГИЯ 92“*, 349-353

**Bastos, R. G., J. Federizzi, J. C. Deschamps, R. Cardellino, O. A Degostin**, 2000. Characterization of swine stress gene by DNA testing using plucked hair as source of DNA. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 4, 815-817

**Ciobanu, D. C., E. D. Andrew, A. Nagy, R. Wales, M. F., Rothschild, G. S. Plastow**, 2001. Genetic variation in two conserved local Romanian pig breeds using type I DNA markers. *Genet. Sel. Evol.*, 33, 417.

- Davalos-Aranda, G., R. Maldonado-Mena, M. V. Garza-Zermeno, S. Cedillo-Rosales, L. C. Galan-Alejo, V. M. Riojas-Valdes**, 2010. Association among Ryanodine Receptor and Insulin-Like Growth Factor Genes with Production Traits in a Commercial Type Swine population from Mexico. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, Vol. 9, 3, 639-642
- Davoli, R., Fontanesi, L., Zambonelli, P., Bigi, D., Gellin, J., Yerle, M., Milc, J., Braglia, S., Cenci, V., Cagnazzo, M., Russo, V.** 2002. Isolation of porcine expressed sequence tags for the construction of a first genomic transcript map of the skeletal muscle in pig. *Anim. Genet.* 33, 3-18
- Didion, B. A., Paszek, A. A., Rohrer, G. A., Sun, H. S., Tuggle, C. K.**, 2000. Genetic linkage and physical mapping of a porcine sequence characterized amplified region (SCAR) to chromosome 6. *J. Anim. Sci.* 78, 3195-3196
- Du, W.**, 2001. Pork Quality Assurance Program Lead/OMAFRA.
- Fujii, J., K. Otsu, F. Zorzatu, S. De Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien, D. H. MacLennan**, 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* 253, 448.
- Gardin, T.**, 1993. Environmental and genetics factors which contribute to handling problems in pork slaughter plans. *Livestock Environment IV. Amer. Soc. Agri. Eng., St. Joseph, MI*, 64-68
- Grau, R. and R. Hamm**, 1952. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung in Fleisch. *Fleischwirtschaft*, 4: 295-297
- Hebinck, A., A. Dalski, H. Engel, Mattei, M. G., Hawken, R., Schwinger, E., Zohlke, C.h.**, 2000. Assignment of transcription factor NFAT5 to human chromosome 16q22.1, murine chromosome 8D and porcine chromosome 6p1.4 and comparison of the polyglutamine domains. *Cytogenet. Cell Genet.* 90, 68-70
- Hornsey, H. C.**, 1956. The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide haem-pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7: 534-540
- Jovanovij, S., Ru@CA Trailovij, M. Mila and Sara**, 2005. Porcine Stress Syndrome (PSS) and Ryanodine Receptor 1 (RYR1) Gene mutation in European Wild Pigs (*Sus scrofa feros*). *Acta Veterinaria (Belgrad)*, Vol. 55, No 2-3, 251-255
- Karsson, A., K. Lundstroem**, 1992. Meat Quality in Pigs Reared in groups up to a unit during the fattening period and slaughter. *Anim. Prod.* 54:421-426
- Kim, K. S., Rothschild, M. F.**, 2001. Mapping of the porcine agouti-related protein (AGRP) gene to chromosome 6. *Anim. Genet.* 32, 316-331
- Kovacs, A., G. Zsarnóczyay**. Development of traditional pork (Mangalitsa) production value chain. Hungarian Meat research Institute, 1097 Budapest, Gubacsi út 6/B. Hungary. kovacs.agnes@ohki.hu [http://www.eoq.hu/iama/conf/1081\\_case.pdf](http://www.eoq.hu/iama/conf/1081_case.pdf)
- Kuiper, H., Spstter, A., Drsgemeller, C., Brenig, B., Leeb, T., Distl, O.**, 2001. Assignment of the porcine inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITI4) gene to SSC13q2.1D>2.2 by fluorescence in situ hybridization and radiation mapping. *Cytogenet Cell Genet* 95.
- Lee, Y. B., Y. I. Choi**, 1999. PSE (pale, soft, exudative) Pork: The Causes and Solutions - Review. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.*, Vol. 12, № 2: 244-252
- MacLennan, D. H. and M. S. Phillips**, 1992. Malignant hyperthermia. *Science*, 256, 789-793
- Petrovic, M., C. Radovic., N. Parunovic, D. Radojkovi, R. Savic**, 2012. Composition of carcass sides and quality of meat from swallow-belly Mangalitsa reared in two systems, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28 (2), 303-311
- Sellier, P.**, 1998. Genetics of meat and carcass traits. In *Genetics of the pigs*. Eds. Rothschild M. E., A. Ruvinski, Wallingford, UK, CAB International, pp. 463.
- Stanisic, N., S. Aleksic, L. Di, Z. Stanimiravic, G. Zhenhua, M. Petrovic, N. Delic, C. Radovic, N. Parunovic, M. Gogic**, 2012. Porcine stress syndrome (PSS) in Mangalitsa pigs. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28 (4), 873.
- Tăbăran, A., S. D. Dan, R. Mihaiu, A. Tăbăran, D. L. Pusta, M. Mihaiu**, 2000. First detection of ryanodine receptor mutation in Mangalitsa crossbred pigs bred in Transylvania. *Genetics Selection Evolution*. <http://www.gsejournal.org/content/44/1/5>.
- Наредба №6/20.03.2007 г. за условията и реда за пасишно отглеждане на свине от Източнобалканската порода и нейните кръстоски. МЗГ, Обн. ДВ. бр. 29 от 06.04.2007.
- AOCA, 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (15 th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

## STRESS SYNDROME (PSS) AND PHYSICALCHEMICAL COMPOSITION OF M. LONGISSIMUS DORSI IN PIGS OF EAST BALKAN BREED

*R. Stoikova-Grigorova, K. Stefanova\*, I. Atanassov\*, J. Nakev\*\*, M. Ignatova, P. Marinova*

*Institute of Animal science – Kostinbrod*

*\*Agrobiointitute – Sofia*

*\*\*Agricultural institute – Shumen*

E-mail: rstoikova@abv.bg

### ABSTRACT

The Malignant hyperthermia in pigs is due to a mutation in the locus of the ryanodine receptor gene (RYR1) or Porcine stress syndrome (PSS) and the presence of pale, soft and exudative (PSE) meat. The aim of this study is to make genotyping for ryanodine receptor gene and physicalchemical analysis of m. Longissimus dorsi in pigs from East Balkan breed. Genotyping by searches locus was performed by polymerase chain reaction method (PCR method) and the analysis of the polymorphism of the restriction fragment lengths (RFLP). DNA is isolated from plucked hair of 32 animals from two herds bred in Burgas and Shumen region. Analyses of genotyping at RYR1 locus from pigs of East Balkan breed showed only homozygous for the dominant allele individuals (NN). The mutation of RYR1 gene (recessive allele n) has not been observed and the tested animals are negative for porcine stress syndrome. Established phenotype of pale, soft and exudative meat in m. Longissimus dorsi at East Balkan breed pigs after induced stress that is by non-genetic origin.

**Key words:** East Balkan breed pigs, ryanodine receptor gene, stress syndrome