

## 第58章 猪应激综合征

在养猪业,猪应激综合征(PSS)是一种众所周知的症候群,其发病原因是由基因突变所致,且发生较为常见,严重地影响养猪业的经济效益,有时会带来严重的后果。在 PSS 基因纯合体猪中,其影响非常显著:即大型育肥瘦肉猪(脂肪沉积很少),其胴体肌肉容易变质,对应激症可导致死亡及严重破坏肉质的麻醉剂敏感。PSS 基因突变型最早发现于比利时的皮特林(Pietrain)猪种,当时正在选育肌肉极端丰满的“双肌型”猪(double—muscling)或“culard”。从 20 世纪 50 年代早期开始,随着集约化养猪业的发展,带有 PSS 基因的猪群在世界范围内迅速扩散,以至于达到了近乎流行的程度。消费者对瘦肉型猪肉的追求和对低脂肪型猪肉的需求在一定程度上促进了这种扩散,从而忽略了猪肉质量的下降。

重型瘦肉型猪瘦肉率高,生产效益也相对较高,但对应激敏感、肉质易变坏,然而这种易感性变化大,易受环境和饲养管理因素的影响。

人们对 PSS 基因相关异常的病理生理已有了深入的了解(O'Brien 1987, 1995; O'Brien 等, 1990a),可反映在骨骼肌对各种刺激做出不适宜和过度的代谢性与收缩性反应,这些刺激包括对过渡炎热及拥挤等刺激,特别是在运输和与其它猪只混群,以及在屠宰时的电刺激、机械性及缺氧刺激等(电击及放血过程)。PSS 是第一个由遗传因素引起的、其机制已从分子水平解释清除的疾病,其突变基因已被识别,且其 DNA 诊断试验已在国际上广泛应用。PSS 基因突变发生在 *ryr—1* 基因(最早称为 Hal 基因)。该基因影响骨骼肌肌浆网上钙离子释放通道(ranodine 受体)。

### 临床症状

Ludvigsen(1953, 1954)在世界上首次报道了一种发生于丹麦猪(Danish Swine)的致死性

症候群,其特点是体温升高,呼吸困难,肌肉抽搐及轻度发绀。当时已注意到其与送往屠宰场的运输及处理过程中的过劳,温热和环境应激等因素有关。患有这种综合征的猪只屠宰后,其肌肉苍白、多汁且有酸味。他当时称此为“肌肉变质”(muskeldegeneration)。20 世纪 50 年代末期,其它国家也相继发现了这种症候群的存在。法国的研究人员称其为“猪渗出性脱色性肌病变”(Henry 等, 1955),美国称其为“猪苍白、松软、渗出性(PSE)疾病”(Judge 等, 1959; Briskey 等, 1959a; Briskey, 1964)。比利时人称此为“背肌坏死”(Thoonen 和 Hoorens, 1960)。而英国则称为“白肌症”(Lawrie, 1960)。

人们发现了这种综合征与猪对应激的易感性有密切关系(Judge 等, 1967, 1968; Forrest

等, 1968)。当这种猪在环境温度较高的情况下受到兴奋刺激时, 会出现明显的代谢性、呼吸性酸中毒, 静脉血液中氧饱和度降低, 心动过速及呼吸加快, 再发展下去则会出现心脏和呼吸系统功能衰竭。死后剖检所见其肌肉极度PSE(苍白, 松软和渗出)。其后这种综合征得到更详细的描述, 而且定名为“猪应激综合征(Porcine Stress Syndrome(PSS))(Topel 等, 1968)。欧洲有人称其为“急性应激综合征“(Allen 等, 1970a)”, 恶性高热综合征(Eikelenboom 和 Minkema, 1974), 或“急性背肌坏死”(Thoonen 和 Hoorens, 1960; Bickhardt 等, 1975; Bradley 等, 1979)。人们还注意到 PSS 偶尔也发于猪场内, 而且与环境应激因素如合群(混群)、猪之间互咬及交配等有关。Topel 等(1968)发现 PSS 的早期症状之一是快速的尾巴震颤, 然后是呼吸困难, 进而发展成张口呼吸, 体温升高, 皮肤发生无规则的变白和红斑, 倦怠, 虚脱直至死亡。整个过程可在应激发生后的几分钟之内发生, 而且死后迅速出现僵尸。

Hall 等人(1966)最早发现药物可诱发猪的致死性症候群, 而且与遗传有关, 他们当时用长白猪(Landrace)做实验性手术时, 使用了使肌肉去极化的肌肉松弛剂(如琥珀酰胆碱)(Hall 等, 1966; Harrison 等, 1994)及挥发性麻醉剂(如氟烷)(Harrison 等, 1968)时发现这一现象的。当时患猪出现急性恶性高热, 其特点是肌肉强直, 皮肤出现蓝色斑点(Blotchy blueness), 循环衰竭伴有代谢性和呼吸性酸中毒。人们很快便认识到这种恶性高热症与 PSS 有相似之处(Eikelenboom 和 Sybesma, 1969; Sybesma 和 Eikelenboom, 1969; Allen 等 1970a), 而且建立了用氟烷刺激试验来检测猪只对 PSS 易感性的临床检测方法(Christian, 1974)和检测猪 PSE 的方法(Eikelenboom 和 Minkema, 1974)。此外尚有报道, 用  $\alpha$ -肾上腺素受体激动剂、5-羟色胺等也可以引起猪的恶性高热(Hall 等, 1977b; Löscher 等, 1990; Fiege 等, 2003); 同时用高剂量的兰尼丁受体收缩剂如 4-氯-m-甲酚等也可引起猪的恶性高热(Wappler 等, 1999)。

## 流行病学

### 起源

有关猪 PSE 的报道最早可追溯到 20 世纪早期的德国文献(Wismer-Pedersen, 1969)。当时已认识到 PSE 与近交, 饲养管理所造成的应激、运输以及急性心力衰竭等因素有关(Hupka, 1939)。这种突变的基因特性最早于 1920 年前后被确认并被筛选出来, 这个过程发生在比利时 Brabant 省的皮特兰(Pietrain)镇附近的猪场(Olivier, 1980; Porter, 1993)。当时人们利用这种特性来选育皮特兰猪(Pietrain)品系, 方法是将当地猪(Normand)与约克夏(Berkshire)猪杂交(Porter, 1993)。随着对高品质、新鲜猪肉的需求不断增加, 这种皮特兰猪所具有的瘦肉率高(脂肪沉积少)和肌肉丰满的特性越来越受欢迎, 而且皮特兰猪于 1953 年被定为一个品系而列入比利时猪种文献中(Porter, 1993)。最近关于单倍型 DNA 序列分析(Fujii 等, 1991)和世界范围内广泛的 DNA 测试(O'Brien 等, 1993; Vögeli 等 1993, 1994; McPhee 等, 1994; Lackovic 等, 1997; Yun 等, 1998; Bastos 等, 2000; Morioka, 2002; EuiKyung 和 YeonSoo, 2002; Sabre 等, 2003)等试验确认了 PSS 起源于一头原始基因携带猪(Founder, pig)。

## 扩散

PSS 突变基因是由比利时扩散到邻近的德国、法国和荷兰的，再扩散到其他欧洲国家。这种基因传入美国可能是在 1934 年美国进口丹麦长白猪（Landrace）时带入的，而在美国的扩散可能发生在 1950 年，其后变成美国长白猪的主要构成成分（Porter,1993）。在美国，PSS 基因首次发现于俄亥俄州的波中猪（Poland-China）群，这种基因很可能也来自于波中猪的祖先之一的约克夏猪（Lynch,1914），因为约克夏猪与皮特兰猪有共同血缘关系。在二次世界大战期间，由于植物油的发展及随后对猪脂肪需求的减少，人们转向培育波中猪以及瘦肉猪（Porter,1993）。到了 20 世纪 50 年代末期，波中猪已被公认为是 PSE 发生率高的猪（Judge 等，1959；Briskey,1964），到了 20 世纪 60 年代中期，其对应激易感性的特性也被发现（Judge 等，1967，1968；Briskey,1969；Forrest 等，1968），其后不久，人们又发现波中猪对氟烷敏感性的发生率也高于其他品种（Jones 等，1970，1973；Nelson 等，1972）。在 20 世纪 70 年代，通过用长白猪对氟烷刺激实验（Halothane Challenge Test）的反应性研究了其在不同国家的流行，进而揭示了 PSS 突变基因的扩散特性，结果显示，在比利时其阳性率约为 90%；西德为 70%；法国为 20%；荷兰为 20%；瑞典、瑞士和南非为 15%；英国、丹麦、芬兰及加拿大（法语区）为 10%；挪威、爱尔兰、澳大利亚及加拿大（英语区）为 5%（Jensen,1979；Webb,1980，1981；DeRoth 等，1981；Mitchell 和 Heffron,1982；Seeler 等，1984；Kallweit,1985）。

20 世纪 80 年代早期以前，与皮特兰猪、长白猪及波中猪相比，杜洛克(Duroc)，大白猪(Large White)和美国约克夏猪(American Yorkshire)未见有氟烷刺激试验反应阳性者，汉普夏(Hamp Shires)和约克夏(Dutch Yorkshire)的阳性率低于 3%（Webb,1981）。

PSS 变异基因的迅速扩散是由多种因素造成的，而不仅仅是因为其基因纯合子会产生丰满的肌肉和瘦肉率高等特征。在此美国和其他一些国家，过去和现在一直存在的现象是，屠宰场给提供瘦肉率高的农场主更高的经济刺激，结果导致养猪场更侧重于挑选那些背部脂肪少、瘦肉多的猪种，这样便促进了带有 PSS 基因的猪种的扩散。此外，对提供低质猪肉的厂家没有惩罚措施也是助长因素之一，特别是在比利时、德国、英国及美国等猪肉进口国。猪肉出口国如丹麦和荷兰相比之下略好一点(Kallweit,1985)。现代养猪业的金字塔型结构，使群体当中极小部分的遗传基因放大成屠宰场的绝大部分，加上国内和国际间种猪的迅速交换，进一步促进了 PSS 基因扩散的速度和速率。总之，最主要的驱动力还是在 20 世纪 50 年代中期开始的严格选育瘦肉型猪，一直到 20 世纪 70 年代早期这种选育活动还不断被强化。这些因素的综合结果便是导致了 PSS 达到近乎流行的比例。

值得一提的是，PSS 突变基因可以从一头原始基因携带猪迅速传遍许多国家的无数个品种，说明所谓的纯种品种之间一定发生过杂交，这一点可以从 PSS 基因出现频率较高的约克夏、杜洛克和汉普夏猪种得到证实(O' Brien,1995)，而这些品种曾在 20 世纪 70 代被认为是对 PSS 无易感性的(Webb,1981)。此外，在某些尚未引入现代育种技术的地区，地方猪种可能完全不携带 PSS 基因，比

如西伯利亚(Knyazev 等, 1996)、中国贵州的广灵猪 (ShanHua, 1997)、葡萄牙的 Manchado de Jabugo 猪 (Ramos 等, 2000)。

进入 20 世纪 70 年代, 对于 PSS 与肌肉的多少, PSS 与 PSE 以及与 PSS 基因纯合体的高死亡率和严重的猪 PSE 等所造成的经济损失之间的关系等已被广泛了解(Topel, 1981a; Kallweit, 1985)。所有这些知识, 加上氟烷刺激试验的出现(以及欧洲所用的血型分析检测 PSS 的方法)等, 导致了世界范围内对带有 PSS 基因猪种的严格筛选和淘汰, 从而使 PSS 基因携带猪在数量上由 20 世纪 70 年代到 80 年代迅速减少(Topel, 1981a; Webb, 1981; Kallwait, 1985; Vögeli 等 1985), 特别是在采取了全国范围筛选计划的国家, 效果更为明显。1978 年以来, 氟烷刺激试验阳性率在瑞士长白猪种中由以前的 18%降到了 1982 年的 1%; 法国由 18%降到了 1984 年的 5%; 芬兰由 12%降到了 1984 年的 5%; 挪威由 6%降到了 1983 年的 2%。20 世纪 90 年代早期, 在北美和英国用 DNA 检测种猪群的结果表明, 仅有 1%到 2%的长白猪为 PSS 突变基因纯合体, 即只有 1%到 2%的猪可能为氟烷刺激试验阳性(O' Brien, 1995)。

## 流行性

应用 DNA 血型分析检测法对一些国家育种项目中不同品种的 25 000 头猪进行 PSS 突变基因的流行情况做了调查(O' Brien 等, 1993; O' Brien, 1995)。血液样品分别来自 200 个美国养猪场(育种场), 其中 50%来自伊利诺斯州、印第安那州和依阿华州; 150 个加拿大育种场, 其中 50%来自安大略省; 以及 5 个英国的养猪场。带有 PSS 杂合体的百分比在不同的国家不同品种之间有差异。其中英国的长白猪种为最高, 具体数字为英国长白猪为 40%, 大白猪为 20%, 所有猪种平均为 30%。美国长白猪为 40%, 杜洛克为 35%, 汉普夏及其它猪种为 25%。加拿大长白猪为 30%, 约克夏为 15%—20%, 汉普夏、杜洛克及其它猪种也为 15%—20%。PSS 基因纯合体的百分比在加拿大为 1%, 美国和英国为 2%。在加拿大, 选育抗 PSS 基因突变猪项目已开展近 10 年, 此项目使 PSS 基因杂合体的发生率显著降低 75% (Du, 2003)。

PSS 基因最明显和最严重的效应是其致死率, 但这种效应并不常见。典型病例在北美和欧洲的发生率还不到 0.5%(Tarrant, 1993)。然而在对 PSS 基因纯合体进行筛选以前并且在运输条件未做明显改善的情况下, 运输过程中死亡率可高达 4%—10% (Devoe 等, 1971; Lendfers, 1971; Korolija, 1979) 由 PSS 所致的死亡率在 PSS 基因纯合体猪中可高达 10%—15%(Webb 和 Jordan, 1979; Rundgren 等, 1990; McPhee 等, 1994)。如果能将 PSS 纯合体猪从送宰猪中挑出同时将运输过程中的刺激因素降到最低, 则上述的死亡率可大大降低(Topel, 1981b)。芬兰的一项研究表明, 氟烷刺激试验阳性率由 12%降到近乎 0%, 使运输过程中的死亡率由 0.8%降到 0.1%(Kuosmanen 和 Puonti, 1993)。在丹麦, PSS 基因已基本上被根除, 运输死亡率不超过 0.2% (Barton-Gade 等, 2003)。

北美洲 PSS 基因杂合体猪的出现频率在种猪群为 20%—25%, 是育成猪群(送宰)的 2 倍, 育成猪群为 11%—15%(O' Brien, 1995; Pommier 等, 1992; Goodwin, 1994a, b; Goodwin 和 Burroughs, 1995; Gibson 等, 1996)。这个差

异可能反映了在种猪群中特别是在种公猪品系方面进行基因选育的结果。另一方面则从育成猪中剔除了 PSS 基因纯合体猪。

在其他国家, DNA 检测 PSS 突变基因方法的建立使其评估 PSS 杂合体出现频率成为可能, 巴西为 28% (Bastos 等, 2000), 日本为 6% (Morioka, 2002) 爱沙尼亚为 9% (Sabre 等, 2003), 韩国为 15% (EuiKyung 和 YeonSoo, 2002), 台湾为 28% (Yun 等, 1998), 克罗地亚为 11% (Lackovic 等, 1997)。

由于担心对经济效益带来不良影响, 只有极少数关于 PSE 发生情况的公开报道, 特别是那些出口猪肉的国家(Cassens 等, 1980)。根据对 PSE 定义的范围不同, 各国对 PSE 发生频率的评价也有差异。在欧洲, 20 世纪 60 年代早期, 猪 PSE 的发病率很高, 如丹麦的长白猪为 40%; 比利时的皮特兰猪为 90%(Briskey, 1964)。如前所述, 长白猪氟烷刺激试验阳性率最高, 而且阳性猪有 80% 会出现 PSE(Eikelenboom, 1985; Jensen 和 Barton—Gade. 1985)。在某些国家如瑞士和芬兰, 人们用氟烷刺激试验进行严格筛选并依据育成猪肉的质量高低来选种和育种, 结果使 PSE 的出现率大幅度下降, 瑞士长白猪由 33%(1978)降到了 1983 年的 7%(Vögeli 等, 1985)。据报道在 1998 年, 以测定初始死亡后半膜 pH 不超过 6 为标准判定 PSE 发生率, 结果如下: 葡萄牙为 69%, 荷兰为 23%, 意大利为 8%, 丹麦仅为 2%。相比之下, 英国在此同一时期内 PSE 的出现率呈上升趋势。在 1964 年和 1972—1973 年, PSE 猪肉由 6%上升到了 1983 年的 13%, (1972—1973 年所用的标准为屠宰后 45min 猪肉的 pH 低于 6, 所用样本为 5 000 个胴体)(Kempster 和 Cuthertson, 1975; Chadwick 和 kempster, 1983)。在加拿大于 1981 年对 1 000 头猪所进行的二项调查报告表明, 若以这种 pH 测定法为准, 则其 PSE 猪肉的出现率为 20%—22%(Thompson, 1981)。美国从 20 世纪 60 年代以来, 一直沿用主观目测评分法检查胴体的颜色、坚实度及湿润程度来判定 PSE 猪肉。用这种方法对 15 000 头猪肉质的检查结果显示, PSE 猪肉的出现率为 18%(Briskey, 1964)。20 世纪 90 年代早期对 14 家屠宰场总计 10 000 多例臀部肌肉(hams)的调查显示, PSE 猪肉出现率为 6%—33%, 平均为 16%(Kauffman 等 1993; Bäckström 和 Kauffman, 1995)。爱尔兰在 20 世纪 90 年代末期每年 PSE 的发生频率约为 26%, 且发生频率变化很大, 主要受天气、屠宰频率和屠宰前休息期的变化等因素影响。

## 发病机理

PSS 基因导致猪整体及机体个别部位的肌肉(骨骼肌)对药理性、神经性、缺氧性、内分泌性及物理性刺激的敏感性和反应性增强(Ister 等 1970; Gronernt 等, 1980; Ahern 等, 1985)。肌肉的这种高敏感性与肌浆网中钙离子的释放异常有关, 肌浆网的主要功能是调节细胞内钙离子的浓度从而调解肌肉的活动。通过向单个肌浆网内注入钙离子后研究其释放机制发现, 咖啡因可促使其过早地释放钙离子(Dhnishi 等, 1983; Nelson, 1983)。另有人发现在这种情况下钙离子的释放量异常增加而且其释放速度也异常加快(Kim 等, 1984)。确切地说肌浆网中的钙离子通道, 在肌肉活动的生物化学反应中起关键作用(Ogawa, 1994)。而这种活性可被较低浓度的协同剂所激活, 并被更高浓度的拮抗剂所抑制(与对照组相比)(O'Brien 等, 1985a; O'Brien, 1986a)。有人提出这种引起钙离子迅速过量

释放的钙离子通道的高度敏感性是由于亚分子结构上的缺陷导致该通道的过度开放或是其关闭被抑制 (O'Brien 等, 1985a; O'Brien, 1990)。这种通道的缺陷发生在 DNA 分子上的一个突变位点, 即第 6 染色体着丝点附近 *ryr-1* 基因上 1843d 核苷酸链上胞嘧啶换成了胸腺嘧啶, 从而导致钙离子通道蛋白中第 615 位氨基酸——精氨酸被半胱氨酸所取代 (Fujii 等 1991)。这个基因最早称为 Hal 基因, 主要功能是它与对氟烷的敏感性及血型有关 (Andressen 和 Jensen, 1977)。

多种可刺激肌肉的物质可以通过不同机制激活钙离子通道的敏感性 (O'Brien, 1986; Ogawa, 1994)。咖啡因和钙离子本身都属于钙离子释放通道的协同剂, 神经性刺激、电刺激及可使肌细胞去极化的肌肉松弛剂等都能使肌细胞膜去极化, 从而激活一种电压感受器 (voltage sensor) (这种感受器本身便是一种钙离子通道的遗迹), 这个效应与钙离子释放通道协同作用并对其起调节作用。此外如果钙离子按离子浓度梯度向细胞内流动也可以激活该通道。非特异性膜表面活化剂 (如挥发性麻醉剂等) 也可以提高膜表面对钙离子的通透性 (O'Brien, 1986)。刺激膜表面 ( $\alpha$ -肾上腺素或 5-羟色胺受体) 能激发磷酸肌醇的形成, 从而打开与其相关的钙离子通道 (Scho1z 等, 1991, 1993)。在缺氧条件下, 一些因素如能量的缺乏、酸中毒、游离基团的形成及膜降解酶的激活、肌质中的网状组织隔离活性等均可以引起钙离子向细胞内的流入 (O'Brien 等, 1986b; O'Brien 等, 1991)。

### 应激易感性

对 PSS 的易感性主要限于 PSS 基因纯合体猪而且可以归于骨骼肌对刺激的不适宜或过度的代谢性和收缩性反应。代谢性的增强导致肌肉对氧和糖原消耗的加速, 进而释放出过多的热量和酸性代谢产物, 钾离子、二氧化碳及肌蛋白等进入血液循环 (Berman 等, 1970; Clark 等, 1973; Gronert 和 milde, 1976; Hall 等, 1980a)。热量的产生伴随外周血管收缩而导致高热症 (Clark 等, 1973; Hall 等, 1976)。快速需氧代谢使静脉血氧饱和度降低导致发绀 (Hall 等, 1976; Gronert, 1980)。代谢性和呼吸性酸中毒的形成导致呼吸加快和呼吸困难。对交感神经的神经内分泌系统的刺激会引起心动过速和心输出量的增加, 然后在逐渐发生的高儿茶酚胺血症、高热症、高血钾、酸中毒及血液浓缩等的影响下, 心脏功能异常会迅速发展成心律不齐, 最后出现心跳停止 (Gronert 和 Theye, 1976; Gronert 等, 1977), 肌肉糖原和三磷酸腺苷的迅速衰竭导致猪只死亡后立即发生尸僵 (Briskey, 1964)。

尽管 PSS 易感猪的肌肉对应激刺激的反应, 即交感神经系统的神经内分泌反应过强和过长, 但这些反应只是应激反应的结果和使反应加重的因素, 而不是引起应激反应的启动因素 (Gronert 等, 1977, 1980)。PSS 反应还可能是交感神经促进肌肉糖原的酵解, 神经肌肉间的传递以及皮肤和肌肉中血管收缩的加速, 进而导致热量散失的降低或肌肉缺血 (Lister 等, 1970; Gronert 等, 1980), 通过  $\alpha$ -肾上腺素受体活性直接刺激骨骼肌 (Lister 等, 1976; Hall 等, 1977b)。5-羟色胺在 PSS 过程中也许还有其它作用, 比如在应激状况下, 其向脑组织中的释放, 在血清中的浓度显著增加, 这一结果会直接促进运动神经元兴奋的传递, 导致血管收缩, 损伤缺血性肌肉的氧合作用 (Komiyama 等, 2004), 进而直接刺激骨骼肌的活动 (Löscher 等, 1990, 1994; Gerdes 等, 1992)。

## 低质猪肉(PSE 猪肉)

**肌肉的特性** PSE 猪肉的形成是由于屠宰后所发生的糖原分解和糖酵解所致,而这些反应发生在屠宰时电击和放血过程中所出现的突然缺氧、儿茶酚胺的释放以及对运动神经的机械刺激及其它刺激(Lawrie, 1960; Briskev, 1964; McLughlin, 1971)。这些反应的综合效应导致酸性产物的增多和热量的产生;从而引起肌浆网和肌纤维蛋白变性;由于肌纤维间质静电斥力的降低而引起的肌纤维间液体间隙的缩小(Bendall 和 Swatland, 1988),这些变化又导致含水能力丧失、光散射增强、折射系数改变以及肌原纤维节延长等,其综合效应便是 PSE 猪的产生(Bendall 和 Swatland, 1988; Swatland, 1989, 1993)。另外,在代谢上升阶段的早期,对渗透压有影响的终端产物可引起水液由细胞外向肌浆网液体小室(compartment)内的一过性流入(Berman 等, 1970; Froystein 等, 1984; Janzen 等, 1994)。

PSE 猪肉基本上发生于臀部和腰部的肌肉,特别是背最长肌、前腱肌和臀肌(Ludvigsen, 1953; Briskey 等, 1959b; Lawrie, 1960; Thoonen 和 Hoorens, 1960)。这些肌肉中含有较高比例的“白”纤维,这些纤维具有较高的糖酵解能力;如背最长肌为 70%-85%,白半腱肌为 79%—93%,臀肌为 81%(Gallant, 1980; Rahelic 和 Puac, 1981; Essen-Gustavsson 和 Lindholm, 1984)。

对肌肉丰满度的选育结果导致了猪骨骼肌对 PSE 易感性的增强,而如果选育出的猪携带有 PSS 基因,则这种易感性还会增强。与野生猪相比,这种猪的骨骼肌中含有更多的快速抽搐(Ⅱ类)纤维,这些纤维中的多数具有更高的糖酵解能力,但对疲劳的抵抗力很低(Szentkuti 等, 1981; Rahelic 和 Puac, 1981; Essen-Gustavsson 和 Lindholm, 1984)。PSS 易感猪肌纤维直径比非易感猪的大(Dildey 等, 1970; Sair 等, 1972),这与其毛细血管数量和氧合作用下降有关(Essen-Gustavsson 等, 1992; Fiedler 等, 1999)。然而各种类型纤维的比例与同一品种的 PSS 非易感猪无明显差异(Gallant, 1980; Heffron 等, 1982; Essen-Gustavsson 和 Lindholm, 1984)或快速抽搐糖酵解纤维有轻度增加(Fiedler 等, 1999)。很明显,由于 PSS 易感猪对刺激的高度敏感,其肌纤维在组织学样本中常呈现极度收缩(Ludvigsen, 1953; Henry 等, 1955; Lawrie, 1960),特别是第Ⅱ类型纤维(Palmer 等, 1977)。PSS 易感猪还具有更多含有内核(internal nuclei)的纤维和巨大纤维(giant fibers),这些也许是轻度肌肉损伤的累积效应(Gassens 和 Cooper, 1969; Palmer 等, 1977; Duston 等, 1978; Handel 和 Stickland, 1986; Fiedler 等, 1999)。

## 环境和管理因素的影响

由于受 PSS 突变基因影响的肌肉对刺激更敏感,其在屠宰后发生 PSE 肉的频率和严重程度都比正常肌肉高。然而,有一些环境因素和猪只或胴体处理因素可以影响 PSS 易感猪 PSE 肉出现的程度。这些因素主要通过影响对肌肉刺激的程度和肌肉代谢产物即糖原的量而发挥作用。由于屠宰后糖酵解反应的速度和持续时间以及随后产生的酸和热主要取决于糖原的含量,因此屠宰前能够降低糖原含量的因素便会限制 PSE 猪肉的发生(Briskey 等, 1959b)。假如能够在屠宰前显



著地减少肌肉内糖原的含量,而且给予屠宰猪只一定时间以利于体内酸碱平衡的恢复,这样 PSS 易感猪的肌肉就不会变成 PSE 肉。然而,如果这种糖原降低至糖原枯竭的程度,则肉质会发生与 PSE 肉相反的变化,即干燥、坚实和深色(DFD) (Briskey 等, 1959b; Lundström 等, 1989; Bäckström 和 Kauffman, 1995; Gispert 等, 2000)。由于带有 PSS 突变基因的猪只对肌肉刺激更敏感,反应更强烈,更容易发生糖原分解,所以这种猪可能更容易发生 DFD。

目前已知可促进 PSE 猪肉生产的特定环境因素及管理因素有:屠宰前运输超过 500km,运输过程中过度拥挤,夏秋季环境温度的上升及在屠宰前的某些应激因素。已知可降低 PSE 肉产生的因素有:屠宰前运输距离不超过 50-300 km,屠宰前绝食 12-22h,屠宰前静候 2-3h 使其对屠宰前的应激有一个恢复的过程;铺设橡胶质地的地面以避免滑倒;预先调节其对屠宰前的应激因素如:与人员的接触、混群及适应拥挤条件等 (Ludvigsen, 1954; Scheper, 1969, 1976; Lendfers, 1969; Barton, 1971; Nielsen, 1979; Korolijia, 1979; Grandin, 1980b, 1986, 1996; Tarrant, 1993; Bäckström 和 Kauffman, 1995; Berg, 1998; Guardia 等, 2004)。法国的一项研究表明,减少屠宰前的应激因素可大幅度减少 PSE 肉的发生频率 (Frank 等, 2003)。传统的电击、驱赶猪进入狭道使其致晕的机械方法已被用滑动门驱赶一小群猪进入机械的自动系统所替代。

与用捕获猪的器具、二氧化碳或低电压电击活猪等屠宰方法对肌肉的刺激相比,短刺激高电压 (300v) 电击并在屠宰后 30s 内放血会减少对肌肉的刺激,从而降低 PSE 肉产生的频率 (van der Wal, 1971a, b; Ratcliff, 1971; Grandin, 1980a, 1982; van der Wal 和 Eikelenboom, 1981)。与此相反,一些最近的研究表明,高电压电击特别是在电击时无保定措施,与用低电压加上二氧化碳时相比可能会导致 PSE 肉的增加 (Bäckström 和 Kauffman, 1995)。西班牙的一项研究表明,用二氧化碳致晕法替代电击致晕法可使 PSE 肉发生率由 36%降低至 5%;淤点、瘀斑、血肿的发生率也大幅度降低 (Velarde 等, 2001)。澳大利亚的一项研究表明,用二氧化碳致晕法替代电击致晕法可使重量损失由 7.3%降低至 5.8% (Channon 等, 2000)。

由于屠宰时受到刺激而使死后糖酵解速率增加,这种反应可以用屠宰前给予抑制神经肌肉间神经递质传递的筒箭毒碱加以抑制 (Bendall, 1996),或用非极化性肌松剂 (Hallund 和 Bendall, 1965) 或者镁制剂 (Sair 等, 1970; Lahucky 等, 2004),还可在屠宰前给与丹曲林娜 (dantrolene) 等都可缓解这种反应 (yang 等, 1983);然而在屠宰前给予肾上腺素会增加死后糖酵解的速率 (Althen 等, 1979)。液氮快速冷却可阻止 PSE 肉的形成 (Borchert 和 Brisky, 1964)。杂和体猪在屠宰后半小时内进行快速冷却可减缓 pH 降低的速率,降低 PSE 肉的发生频率,但有正常的肌重损失 (Maribo 等, 1998)。同时太快的冷却速度可使肌肉纤维缩短,降低其结合水的能力,使其最终发展成为坚实猪肉 (Rosenvold 和 Anersen, 2003)。

汉普夏猪 (Hampshire) 携带 RN 基因的比例较高,而带有这种基因的猪白肌 (white muscle) 内糖原的含量比不带者高 70% (Sair 等, 1963; Monin 和 Sellier, 1985; Le Roy 等, 1990),其死后糖原分解代谢持续的时间较长,但其反



应速度未变。肌肉 pH 降低，肉质显著下降，带有 RN 基因和 ryr-1 基因的猪胴体容易产生严重的 PSE 肉，这是由于屠宰后糖原分解持续的时间长且速率加快所致（Gibson 等，1996）。

环境因素和猪只管理、胴体处理因素对 PSE 猪肉的产生频率和严重程度方面的影响要大于遗传因素的影响。尽管人们早就知道不带有 PSS 基因的猪也可以产生 PSE 猪肉（Mitchell 和 Heffron, 1982），但由带 PSS 基因的猪产生的 PSE 肉在其中所占的比例变化很大，因为 PSE 肉地产生频率取决于 PSS 基因的出现频率、所用的 PSE 肉质的定义、屠宰前应激因素的程度以及在屠宰后对胴体质量衰变的控制办法等。Jensen 和 Bavton—Gade(1985)报道，对某些猪肉进行质量判定时，质量不高但又不属于典型 PSE 肉都应划归入 PSE 肉等级，结果使不带 PSS 基因的猪，PSS 基因杂合子猪及 PSS 纯合子猪的 PSE 肉产生率分别由 5%增加到 15%；27%增加到 38%；81%增加到 90%。Kauffman 等（1993）提出 RSE 肉（红色、质地柔软、渗出）和 RSN 肉（红色、质地柔软、正常）均不属于 PSE 猪肉，分别属于有质量问题和优质猪肉。仅有 15%的猪肉属于优质猪肉，有 50%的猪肉因为渗出被认为有质量问题。Bavton—Gade 还发现，不带 PSS 基因的猪，或带有 PSS 基因的杂和体猪或纯合体猪，屠宰前应激因素的增加可导致 PSE 肉产生率的增加，分别由 0%增加到 33%；13%增加到 33%；79%增加到 100%（Lundström 等，1989）。最近用 DNA 检测法对一家 PSE 肉高发(20%—30%)的屠宰场进行的研究表明：非遗传因素引发的 PSE 猪肉产量是遗传因素（PSS 基因）的 2 倍（Pommier 和 Houde,1993）。通过对肉眼检测判定为 PSE 肉的腰肌再用表面比色计进行客观评定结果显示，正常猪 PSS 基因杂合体及 PSS 纯合体猪产生 PSE 猪肉的频率分别为 54%、80%和 91%，而产生的猪肉在该屠宰场所占的比重分别为 68%、29%和 4%。西班牙的一项研究表明，通过测定半膜肌肉电导率评价肉质不受杂和状态的影响（Gispert 等，2000），然而杂合体基因作用的缺乏可能与屠宰后半膜 pH 降低速度较最长肌慢有关（Fernandez 等，2002）。

由 PSE 肉所造成的经济损失是由于胴体和猪肉在贮存、运输及加工过程中水分的散失造成的，这些水分丢失造成猪肉的萎缩和重量的丢失，结果使其市场价值降低(Kanffman 等，1978)。另外，PSE 肉还可能被选做低档肉产品，如腊肉。由于 PSE 肉的保鲜期缩短，特别是消费者对外观及口味等方面的挑剔，给养猪业和屠宰加工厂等都会造成经济损失(Buchter 和 Zeuthern, 1971；Topel, 1976；Smith 和 Lesser, 1982；Goodwin, 1994a, b；Casteels 等，1995；Jeremiah 等，1996)。美国每年由 PSE 肉所造成的经济损失超过 5000 万美元。

### 肌肉多、瘦肉率高和饲料报酬高

由 PSS 基因突变所造成的钙离子释放通道缺欠的理论可以解释由此导致的肌肉发达、瘦肉增加以及更快的生产发育速度，但是其生理机制尚不清楚。与不携带 PSS 基因的猪相比，等量的刺激使 PSS 基因携带猪的肌肉反应更频繁，更剧烈而且持续的时间更长。因为收缩活动是肌肉增生的刺激，故带有 PSS 基因的猪只肌肉更发达。机体对肌肉发育的要求增加导致对饲料转化成瘦肉的需求大于转化成脂肪组织的需求，这样瘦肉的比重就增加了。此外，由于肌肉组织所含的能量低于脂肪组织，所以单位体重增重所需饲料量也低。

与 PSS 突变基因相关的表现型变化可以用钙离子释放通道缺欠的理论来解释, 与该基因相连的其它基因的表达可能会修饰这些表现型的特性, 这一点也可以得到解释。已知有一些对骨骼肌和脂肪组织起营养和调节作用的基因与 PSS 突变基因相连, 包括载脂蛋白(apolipoprotein)E 基因、对激素敏感酯酶基因、转化生长因子  $\beta$ -1 基因以及  $\alpha$ -黑色素刺激激素受体(melanocortin receptor)所在的扩展黑色(E)位点基因等(Vögeli 等, 1993; Mariani 等, 1996)。在这方面, 一个非常有趣的现象是与 E-一位点相关的黑色斑点表现型与皮特兰品系的黑色波中猪有关系, 这几个品种的猪携带 PSS 基因的频率最高, 而且具有共同祖先, 即约克夏猪(Berkshire)。与大白猪相比, 皮特兰猪肌肉的增加和脂肪含量的降低应归结于相似的、独立的、不相互作用的 PSS 基因突变作用, 这与类胰岛素生长因子 2 相关联的印记基因的多态性和父系等位基因的单独表达有关。

### 对肌肉以外组织的效应

除骨骼肌外, 其它可能受 PSS 突变基因直接影响的组织可以从表达 ryr-1 基因的组织中推导出来。心肌、平滑肌、脂肪组织和脏器中不表达 ryr-1 基因, 但 ryr-1 在脑组织中有表达, 如在丘脑、海马脚、纹状体及小脑组织中, 而且特别是蒲肯野氏细胞中(Furuichi 等, 1994; Giannini 等, 1995)。尽管对脑组织中 ryr-1 基因表达的生理机制尚不清楚, 但很可能与带有 PSS 突变基因猪脑组织局部神经介质浓度异常有关(Altrogge 等, 1980; Adeola 等, 1993)。这种解释被与 ryr-1 表达减少相关的 ryr-1 变异、钙结合蛋白、肌集钙蛋白理论所支持 (Weaver 等, 2000)。儿茶酚胺和血液中复合胺浓度的变化是应激易感性的其他因素。应激增加脑部 5-羟色胺的释放, 使血液中 5-羟色胺的浓度增加, 最终通过神经元兴奋的传递调节生理应激, 通过血管收缩作用损伤缺血性肌肉的氧合作用 (Komiyama 等, 2004), 进而直接刺激肌肉组织(Löscher 等, 1990, 1994; Gerdes 等, 1992)。

PSS 突变基因个体淋巴细胞敏感性的增加和氟烷刺激引起的胞浆内钙离子的增加 (Klip 等, 1987; O' Brien 等, 1989; O' Brien 等, 1990b) 是由表达 ryr-1 基因的淋巴细胞引起(Girard 等, 2001; Sei 等, 2002); 同时引起其他 ryr-1 基因调节的钙离子信号激发剂包括咖啡因, 4-氯-m-甲酚敏感性的增加。淋巴细胞高度敏感性的生理重要性目前还不清楚, 但与免疫系统的病理生理或炎症反应无关。值得注意的是, 在 PSS 个体, B 淋巴细胞产生炎症细胞浆移动, 它可诱导产生高热反应, 导致体温异常。

除表达 ryr-1 基因的组织只要参与这一过程外, 还有其他组织参与这一过程。如前所述在 PSS 猪中, 脂肪的沉积量和分布都有所减少, 这可能是由于肌肉产生过多所致。而且, PSS 猪发病过程中的特点是其交感神经的神经内分泌系统受到强烈刺激, 导致心律不齐和心跳停止(Gronert 等, 1977)。在带有 PSS 基因的猪只还可见轻度红细胞膜异常(Harrison 和 Verburg, 1973; O' Brien 等, 1985b)、淋巴细胞敏感性增加(Klip 等, 1987; O' Brien 等, 1989)、血小板敏感性上升(Miller 等, 1991; Fink 等, 1992)以及由氟烷刺激引起的细胞浆内钙离子的增加等。这些异常可能是肌肉代谢异常的结果, 但也不能完全排除 PSS 突变基因的直接作用的可能性。

## 继发性退化效应

钙离子的作用除了在代谢方面和肌肉收缩方面以外,它还能激活某些降解过程,包括中性蛋白酶的蛋白溶解作用,钙调节蛋白磷脂酶 A; 激活磷脂并使其释放游离脂肪酸(Cheah 等, 1986; Sensky 等, 1999)。另外,作为线粒体活性增强的副产物,体内形成更多的游离自由基,因而引起脂过氧化反应和其它组织损伤(Duthie 和 Arthur, 1993)。这些反应似乎在猪只屠宰后肉质下降过程中起一定作用。

## PSS 基因遗传及其在杂合状态下的作用

到目前为止,对与 PSS 基因相关的各种特性的遗传形式的定义尚有争议。然而由于检测杂合基因提纯方法精确性的改进,其遗传方式已越来越清楚。遗传的表现主要依赖几种因素,包括遗传特性的性质、基因的数量(遗传所需),基因的敏感性和检测该基因方法的精确度,同时存在的促进和阻碍该基因的遗传因素。在其它遗传因素存在或影响下,PSS 基因所表现的多样性,分离 PSS 基因方法的精确度以及由于研究的重点在于杂合型遗传,人们越来越清楚地认识到,品种及品系对基因表达有修饰效应,表现在临床检查结果和胴体检查结果。

## 动物对氟烷的敏感性及其与应激易感性的关系

Christian(1974)和 Mabry 等(1981)用美国约克夏猪及波中猪所进行的育种试验首次证明了在标准氟烷刺激试验时,其对刺激反应性的遗传方式为单一基因,并且属于常染色体反应。这后来用皮特兰猪(Ollivier 等, 1975; Reik 等, 1983),皮特兰—汉普夏猪(Smith 和 Bampton, 1977; Webb 和 Smith, 1977)及杜洛克猪(Minkema 等, 1977)、澳大利亚长白猪 (McPhee 等, 1979)的试验所证实。平均估计外显率很高,接近 90%,其变化为 64%-130%,其中较低估计外显率是由于试验结果的假阴性所致(Gallant 等, 1987),造成这种假阴性结果的原因有多种,包括有些猪年龄在试验时不足 8 周龄(Carden 等, 1984; Fay 等, 1990),有些实验猪机体状态不良或肌肉发育不良(Mabry 等 1981); 所用氟烷刺激量不足(McGrath 等, 1984); 以及该试验本身的精确度不够(Webb 等, 1979)。对遗传方式的确切定义取决于精确地了解阴性猪的遗传类型。这种基因类型可以使阴性猪与阳性反应猪杂交的后代呈阳性反应。这样的结果使其遗传方式变得更为复杂了(Carden 等, 1983; O'Brien 等, 1985)。由于有人在用氟烷刺激试验时,延长氟烷刺激时间,发现了其遗传方式为显性遗传,这使人进一步对其遗传方式的理解复杂化(Williams 等, 1977; Britt 等, 1978),还有人在氟烷刺激试验的同时加入琥珀酰胆碱(Webb 等, 1986; Seeler 等, 1984)得出的结果是杂合基因遗传。

对 PSS 易感性的遗传方式尚不十分清楚,但似乎是由隐性基因所决定。由应激刺激而致的死亡率在氟烷反应阳性猪是阴性猪的 10 倍 (Eikelenboom 等, 1980a,b)。在一次试验中,PSS 基因杂合体猪群死亡率为零,而在 PSS 基因纯合体猪群死亡率 15% (Rundgren 等, 1990)。在澳大利亚的热带地区,生猪在运输过程中的死亡率在 PSS 纯合体猪为 14%, PSS 杂合体猪为 2.6%,而正常猪则仅为 1.4% (McPhee 等, 1994)。在瘦肉型育成猪中,PSS 基因对致死率的恶性影

响几乎是正常猪的 2 倍。

### 胴体有益及不利的特征

Olivier(1967,1980)研究了皮特兰猪和大白猪后代 ( $F_1$ )，首次报道了与 PSS 基因相关的瘦肉(肌肉)的增加是由常染色体，单一基因的显性遗传所致。杂合型基因仅具有中度肌肉增加、较短的胴体及中度臀肌和腰肌的增加。在氟烷试验出现以后，进一步的研究证实了这一点。同时表明阳性猪的胴体比阴性猪略短，具有较少的背部脂肪、较多的臀部和腰部肌肉，皮肤面积增加(Eikelenboom 和 Minkema, 1974; Webb 和 Jordan, 1979; Gerwig 等, 1979; Monin 等, 1981)，杂合型猪的上述指数居中 (Eikelenboom 等, 1980a,b; Kukoyi 等, 1981)。

PSS 基因对杂合型猪胴体特征影响的检测和定量分析后来发展为用血液标记和 DNA 检测方法测试 PSS 基因。用这些方法研究表明，杂合型猪比正常猪的胴体短，瘦肉多，肌肉发达，生长略慢但效益较高。基因的影响在品种和品系之间变异很大，PSS 基因导致日增重降低 4%-5%，胴体短 0.5%-0.9%，胴体重增加 0.5%-1%，皮肤面积增加 0.5%-1.2%，瘦肉率上升 2%-6%，瘦肉日增重率增加 2.5%-4%，臀肌增加 2%-6%，腰肌增加 3%-15%，背部脂肪减少 0%-8%，肌肉中脂肪减少 10%-36%，增生与饲料消耗比减少 2%-9%(Jensen 和 Barton-Gade, 1985; Rundgren 等, 1990; Pommier 等, 1992; De Smet 等, 1993; O'Brien 等, 1994; McPhee 等, 1994; Goodwin 和 Burroughs, 1995; Leach 等, 1996; Fabrega 等, 2002)。尽管 PSS 基因在杂合基因型及不同杂交系的汉普夏、巴克夏、杜洛克、长白猪、皮特兰猪及约克夏猪中有这些良性影响，但这些结果在某些品系如约克夏、大白猪、杜洛克及白花猪中并未表现出来。另有三个试验，每群包括 1 000—3 000 头不同品种的猪，其试验结果表明，杂合基因在所有猪中惟一保持不变的影响是皮肤面积增加 0.5%-0.6%，肌肉中脂肪降低 8%-11%以及腰肌增加 2%-9%(Goodwin, 1994; Goodwin 等, 1995; Gibson 等, 1996)。西班牙对 1300 个基因型的猪进行研究表明，杂合基因可使腰肌厚度增加 6%，平均瘦肉程度增加 1.5%，然而屠宰过程中的其他未知因素可造成 2.5%的差异(Gispert 等, 2000)。

有关 PSS 基因对肉质影响的遗传特性的早期研究结果不一致。MacDougall 和 Disney (1967) 等发现，在皮特兰猪与英国长白猪杂交后，其杂合基因对肉品质的影响居 PSS 纯合基因猪和正常猪之间，略接近于正常猪。Eikelenboom 等 (1980)对德国长白猪的研究表明，肉质下降是一种隐性基因的特性，杂合体猪及正常猪的胴体质量用主观评分的方法难以区别。后来的研究显示具有 PSS 基因的杂合体猪的肉质居于 PSS 基因纯合体猪和正常猪之间(该研究采用了更精确的基因类型分析法)。在丹麦长白猪的肉质也是居中，但明显接近正常猪 (Jensen 和 Barton-Gade, 1985)，PSE 猪肉的出现频率在 PSS 纯合体猪为 81%，正常猪为 5%，而在 PSS 基因杂合体猪则为 27%。在西班牙，杂合体猪 PSE 的发生率为 25%，正常猪为 8% (Velarde 等, 2001)。许多研究还发现，与正常猪腰肌相比，杂合体猪腰肌的渗出物失重损失(drip loss)在 4℃条件下 24 h 增加 5%—50%，而杂合体猪腰肌的颜色、坚实度、pH 均居中(Jensen 和 Barton-Gade, 1985; Lundström 等, 1989; De Smet 等, 1993; Pommier 和 Houde, 1993; Goodwin, 1994a,b; Goodwin 和 Burroughs, 1995; Casteels 等, 1995; Leach 等, 1996; Gibson 等,

1996)。直观评分特性如熟肉嫩度、肉汁量及脂肪的外观等也居中，但比 PSS 基因纯合体猪更接近正常猪(Goodwin, 1994a,b; Goodwin 和 Burroughs, 1995; Casteels 等, 1995; Jeremiah 等, 1996; Monin 等, 1999; Van Oeckel 等, 2001; Moelich 等, 2003)。未经培训的顾客没有发现正常猪和杂合体猪猪肉的口味差异 (Van Oeckel 等, 2001)。与新鲜猪肉相比，杂合体猪猪肉的咸火腿口味未受到影响 (Fernandez 等, 2002a,b)。

PSS 基因在杂合体猪中对肉质的影响及活体评分的影响在品种和品系之间有很大差异。所有的品系均受到影响，至少是受到部分影响，其中巴克夏猪受影响最小。汉普夏猪受影响最重，约克夏受影响比长白猪重 (O'Brien 等, 1994; Goodwin 等, 1995; Gibson 等, 1996)。

骨骼肌对外部刺激的生理和生化反应的遗传性也是显性遗传。杂合体猪对某些化学刺激的计量和反应关系也居于纯合体猪和正常猪之间，如钙离子释放协同剂对分离出来的钙离子释放通道的刺激效应，咖啡因对骨骼肌的收缩反应及高能磷酸缺乏刺激，肌肉的产酸反应等 (O'Brien 等, 1986; Lundström 等, 1989; Fugii 等, 1991; Shen 等, 1992; Geers 等, 1992)。

## 诊断

### 目测诊断

由有经验的猪场管理人员通过目测来辨认 PSS 基因纯合体猪的准确率为 40%-80%。这种纯合体猪常表现出体型略短、突出的臀部肌肉降低、呈圆形，体脂肪层较薄以及兴奋状态下的快速尾震颤。

### 剖检

在对死于 PSS 的猪进行剖检时，常无特异性肉眼病变，有时可见急性心力衰竭的病变，包括肺充血、气管和支气管水肿、肝充血、胸腔积液。新鲜胴体迅速开始僵直，血液暗黑色，可以认为是氧去饱和所致。肌肉苍白或灰白，多汁质地松软，并带有酸味 (Ludvigsen, 1953)。病理组织学检查经常显示肌纤维高度收缩，偶尔可见肌纤维变性，肌纤维由于水肿而分离，特别是背最长肌和半键肌 (Ludvigsen, 1953; Henry 等, 1955; Lawrie, 1960)。心肌可能显示多灶肌纤维变性和断裂 (O'Brien 等, 1987)。

### 氟烷激发试验

在典型氟烷激发试验中，2-3 月龄猪在人工保定下通过面罩吸入 3%-6%氟烷加氧气 (2-5L/min)，3-5min 或直至出现伸肌强直反应 (Webb 和 Jordan, 1979; Webb, 1981)，出现肌肉强直的猪被认为属于阳性反应，在阳性反应猪种，肌肉强直多出现于吸入氟烷后的 1-3min(Reik 等, 1983; McGrath 等, 1984; O'Brien 等, 1985b)。氟烷浓度低于 3%吸入 3-5min 有时可导致假阴性反应，氟烷浓度高于 4%以上仅对反应频率有轻微的促进并可缩短反应出现的时间，但同时也增加

了死亡率（Webb 和 Jordan, 1979; McGrath 等, 1984）。吸入麻醉剂的麻醉效力对取得精确的实验结果至关重要，如将麻醉效力由强到弱排列，则氟烷最强、异氟烷次之、以下为安氟醚，甲氧氟烷等（McGrath 等, 1981; Wedel 等, 1993）。

对氟烷的敏感性可由吸入麻醉前的疲劳（Van den Hende 等, 1976），过热（Ording 等, 1985），或某些化学药品的刺激（如咖啡因、琥珀酰胆碱， $\alpha$ -肾上腺素积 5-羟色胺）而增加（Hall 等, 1977; Chapin 等, 1981; Seeler 等, 1984; Löscher 等, 1990）。机体状况不良或肌肉发育不良可降低但不能完全消除其对氟烷的敏感性（Mabry 等, 1981; Ahern 等, 1977; McGrath 等, 1981）。此外，如吸入麻醉前服用镇静剂（Ahern 等, 1977; McGrath 等, 1981a），非去极化肌松剂（Gronert 和 Milde, 1981），镁制剂（Flewellen 和 Nelson, 1980）及硬膜外麻醉（Kerr 等, 1975; Gronert 等, 1977; Gronert 等, 1980）也可降低其对氟烷的敏感性，然而服用硝基呋喃因（Harrison, 1975; Gronert 和 Milde, 1976; Hall 等, 1977a）或类似物（Dershwitz 和 Streter, 1990）可以阻断对氟烷的反应。

被试验猪的年龄也可影响其对氟烷的反应性。试验猪携带 PSS 纯和基因，小于 8 周龄者阳性反应频率显著降低，如 3 周龄组仅有 5% 反应阳性，5 周龄组 75% 反应阳性，（Webb, 1981; Carden 和 Webb 等, 1984）。这些年幼的猪有些并未出现肌肉强直，但出现了非强直性恶性高热症，体温及代谢升高，呼吸性酸中毒（Fay 和 Gallant, 1990）。

氟烷试验的一个弱点是阳性猪可能于 24h 内死亡，反应阳性猪的死亡率在不同品种和品系中有差异。大约 360 头德国长白猪阳性为 0.5%（Eikelenboom 等, 1978），而在 229 头皮特兰-汉普夏杂交种为 9%（Webb 等, 1979），在法国及比利时品系的皮特兰-长白猪杂交种也为 9%（Ollivier 等, 1976）死亡率在氟烷试验强度增加后显著上升，如延长麻醉时间或加入琥珀酰胆碱（Williams 和 Lasley, 1977; Britt 等, 1978; Seeler 等, 1984; Webb 等, 1986）。在美国明尼苏达州的一项研究表明，皮特兰猪或约克夏猪后代反应阳性猪 200 头，在试验进行到 18 个月期间内平均死亡率为 10%，其范围为 4%-40%，其中皮特兰猪在闷热、潮湿气候下死亡高于其他品种（O'Brien 等, 1985）。

尽管氟烷试验仅能确认 PSS 基因的纯和体，但是若将其他试验如后代鉴定，血型分析等并用则是一种很有效的辨别杂合体猪的方法。由于这种方法耗时、费力，所以已逐渐被更精确的 DNA 检测法所取代。DNA 检测法可在没有任何品种信息及其它辅助测试的情况下，测出 PSS 的基因类型。

## 血清酶类

早期对 PSS 及 PSE 猪肉的研究表明，PSS 易感猪血液中与肌肉相关的酶类比正常猪高出 2-10 倍，特别是在应激出现后 10-20h。这些酶类包括骨骼肌中乳酸脱氢酶的同功酶、肌酸激酶（CK）、醛缩酶、天门冬氨酸转移酶、苹果酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶激酶（Hessel-De Heer, 1969; Allen 等, 1970; Woolf 等, 1970; Bickhardt, 1971; Duthie 等, 1987）。后来出现了各种用于检测 PSS 易感猪的 CK 试验（肌酸激酶试验）。具体方法是在标准化的运动或热刺激及某些药物的应激

刺激后检测血浆中 CK 酶的量 (Bickhardt 等, 1977; Hwang 等, 1978; Hallberg 等, 1979)。尽管 CK 检测方法已广泛应用于筛选 PSS 易感猪的易感性, 但由于其具有一定的变异性及正常与异常之间的差异很小而影响了该方法的准确性。血液 CK 活性的增加受其他因素的影响, 如快速生长发育期、肌肉群的发育、正常饲养管理过程中的轻微伤害、猪未曾经历过的疲劳、甚至某些肌肉注射等均可导致 CK 上升 (Mitchell 等, 1975; Allen 等, 1976)。这种试验特别是在 PSS 易感猪的数目极少或用来检测 PSS 杂合体猪中结果不十分可靠 (O'Brien 等, 1985; McDonell 等, 1986)。

## 临床化学

临床化学变化反映在骨骼肌代谢速率的增加 (Berman 等, 1970; Gronert 和 Theye, 1976; Hall 等, 1982; Löscher 等, 1994)。在一次 PSS 爆发时, 患猪血清中代谢产物显著增加, 包括磷增加 3 倍、葡萄糖(糖酵解产生)增加了 3 倍、乳酸增加 25 倍、静脉血中二氧化碳上升 2 倍、钾离子增加 2—3 倍、腺苷增加 5 倍、甘油 (脂肪代谢) 增加 2 倍、镁增加 2 倍、体温上升 4-6℃, 血液 pH 值降至 6.6。由于在无氧酵解代谢增加的同时, 有氧酵解也受到促进, 肌肉对氧的摄取也增加 2—3 倍, 这样静脉血氧去饱和度为 2 / 3。钾离子和葡萄糖的释放是由于肝脏和肌肉的糖酵解所致 (Hall 等, 1980)。由于代谢终产物在肌肉细胞内的蓄积, 其渗透压也会上升, 而细胞间液向细胞内的流动则导致血液浓缩 30% (Berman 等, 1970; Froystein 等, 1984)。由于肌细胞膜受损, CK 外渗入血液增加可达 20 倍。内分泌系统对这些变化的反应是肾上腺素和去甲肾上腺素的分泌可增加 80 倍。

## 血型分析

PSS 易感猪的遗传可以追溯到其家族(品系), 准确率可达 90%, 其方法是將氟烷激发试验与 PSS 基因位点标记单倍分析法相结合 (Gahne 和 Juneja, 1985; Vögeli 等, 1985)。这种方法在欧洲国家品种选育中广泛应用。氟烷敏感基因位点 (Hal 或 ryr-1) 与 H 血型基因位点非常接近 (H; Rasmussen 和 Christian, 1976), 与此相邻的基因还有 A-O 血型系统抑制基因 (S; Rasmussen 等, 1980), 红细胞磷酸己糖同功酶 (Phi; Jorgensen 等, 1976) 及 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (6-Pgd; Jorgense 等, 1976) 和血清白蛋白酶基因等 (Po-2; Juneja 等, 1983), 这些基因位于接近第 6 染色体着丝点处 (Davies, 1988; Harbitz 等, 1990)。然而这种方法在应用于父母代基因类型不十分清楚的情况下, 对单一个体测定结果的可靠性极低, 与 DNA 检测法相比, 既费力又不经济, 特别是对氟烷激发试验阳性率低的猪群, 准确性较低。另外, 血型分析要求氟烷试验配合, 而氟烷试验本身的准确性有问题, 而且有一定的致死率。这样, 血型分析法检测 PSS 易感猪已被 DNA 检测法所取代。

## DNA 检测法

DNA 检测法的基本原理是辨别 PSS 缺陷蛋白 (O'Brien 等, 1985; O'Brien, 1986, 1987) 对家兔肌肉检测样品 PSS 缺陷蛋白的分子生物学研究 (Takeshima 等,



1989; Marks 等, 1989; Zorzato 等, 1990), 及其将这种蛋白的研究作为研究人类类似 PSS 易感性的模型(McCarthy 等, 1990; McLennan 等, 1990), 导致了对 PSS 基因的序列分析研究(O' Brien 等, 1990)。这种对 PSS 基因的确切突变位点的定位(Fujii 等, 1991)便是现已专利注册了 DNA 检测法(MacLennan 等, 1992)。这种方法是对 PSS 易感性特异、准确、直接的诊断方法, 该方法应用范围广、经济效益高, 是根除和控制 PSS 的有效方法(O'Brien, 1993)。

这一确定 PSS 敏感性的试验是取少量组织通常取血样, 也可以取头发或肌肉等, 提取 DNA, 对特定的基因片段做序列分析, 经多聚酶链反应, 可直接扩增近百万次, 其目的是放大特定的 DNA 片段。再进行限制性片段多态性分析, 即用限制性核酸内切酶切割两个位点, 位点分别为突变位点和变异、非变异 DNA 所共有的非突变位点。酶切后片段大小, 数量经琼脂凝胶电泳和荧光染色, 证明 PSS 基因类型, 结果是一致的(O'Brien 等, 1993)。

检测 PSS 突变基因的方法在一些国家已获得专利(MacLennan 等, 1992)。已有专门注册商标用于被检动物或其后代的 PSS 基因分类。注册商标是根据 PSS 突变基因位点的名称(Hal), 或其特定突变部位的核苷酸序号以及描述该动物是否受到 PSS 突变基因的影响, 如无突变基因[Hal-1843 nm(无突变)], 突变杂合基因[Hal—1843mm(单突变基因)]或突变纯合基因[Hal—1843dm(双突变基因)]。

### 治疗、预防及控制

对 PSS 猪的治疗, 除了用肌松剂硝基咪海因(Harrison, 1975)或类似物(Dershwiz 等, 1990)外, 还应对症治疗酸中毒、高热、高血钾、缺氧及心律不齐等(Gronet 等, 1976)。另外降低环境温度及静脉注射碳酸氢钠也有一定的治疗效果。

在制定最优化利用 PSS 突变基因的策略时, 应该考虑如下各种因素。PSS 突变基因纯合体猪发生 PSS 和产生 PSE 猪肉的可能性大, 为了经济效益这些猪应进行屠宰处理, 而 PSS 杂合体猪在某些条件下也许会提高经济效益。在 PSS 杂合体猪无其它质量问题的情况下, PSE 肉的出现并不是十分重要的威胁, 而且如果加强管理, 尽量减少正常猪和杂合体猪的 PSE 肉出现, 则这个问题就会更小。目前现场快速检测猪肉质量技术还无法在短时间内区分 PSE 猪肉是由遗传基因造成还是由管理因素所造成, 猪场经营者不会因其猪肉的肉品质量差而受到惩罚。相反, 他们会因为猪肉背部脂肪率的降低和瘦肉率的增加(由 PSS 基因所致)而得到更好的经济效益。PSS 杂合体猪瘦肉率可增加数个百分点, 这样在当今猪肉市场不景气的情况下会给经营者带来可观的经济效益。

尽管养猪经营者不会因 PSE 猪肉而受罚, 但其对整个养猪业是一个经济损失。比如猪肉香肠及其它肉制品的异常收缩加上消费者对 PSE 肉的抵触会导致臀及腰部肌肉价值损失约 5%即每头猪约损失 5 美元[每 22.68kg(50 磅)火腿肉及腰肌肉损失 2 美元](Hall, 1972; Kauffman 等, 1993), 假设 PSE 肉的率为 16%(Kauffman 等, 1993), 每年屠宰 9 000 万头, 这样算来, PSE 肉所造成的经济损失约合 7 000 万美元(每年)。在 20 世纪 80 年代末期, 英国和澳大利亚每年的经

济损失约合 2 000 万美元 (Cassell 等, 1991; Guise, 1987)。然而, PSS 杂合体猪出现 PSE 肉的几率不到 1 / 3 (Jensen, 1985; Lundström 等, 1989), 甚至 PSE 肉出现率高于此, 杂合体猪所造成的 PSE 肉也不超过 PSE 肉总量的 1 / 3, 而其它 2 / 3 是由于饲养管理因素而造成的 (Pommier 等, 1992)。比较起来, 由 PSS 基因所造成的经济效益是火腿 (臀部) 肌肉和腰肌的产量增加 2%—6%, 或者说 2-6 美元 / 每头猪 (由猪的品种和品系不同而异), 又假设 1 / 3 的杂合体猪出现 PSE, 这样 PSS 基因所带来的纯利润每天猪为 0.5-4.5 美元, 在没有对 PSE 肉惩罚政策下, 对养猪经营者来说, 纯利润为 2-6 美元 (每头猪) (Pommier 等, 1992; De Smet 等, 1993; O' Brien 等, 1994; McPhee 等, 1994; Goodwin, 1994; Goodwin 等, 1995; Gibson 等, 1996)。

由此可见, 与设法消除 PSS 基因及其所带来的损失相比, 加强饲养管理体制以减少 PSE 肉的产量更划算。将屠宰前限制喂饲以降低肌肉糖原的含量与尽量减少屠宰前后的应激因素, 以及及时冷冻屠宰后的胴体等措施结合起来, 会显著降低 PSE 肉的产量 (包括 PSS 突变基因携带猪和不带该基因的猪群) (Borchert 和 Brisky, 1964; Topel, 1981b; Grandin, 1986, 1996; Tarrat, 1993)。短期饲喂氧化镁可缓解 PSE 发生的严重程度 (Sair 等, 1970; Ludvigsen, 1985; Lahucky 等, 2004), 但 Caine 等人对天冬氨酸镁的研究表明, 镁对猪肉产量和质量的影响受饮食结构和基因型的控制 (Caine 等, 2000)。如果这种加强饲养管理的方法可以控制 PSE 肉产量, 则其 PSS 基因杂合体的效益可以显著提高。

在一些国家如比利时、德国、澳大利亚及挪威等 (Porter, 1993; Knap, 1996; Burlot 和 Naveau, 2003)。PSS 基因在猪群中的作用受到有效的、严格的控制, 并用来有效地提高经济效益。一种有效的策略是利用基因, 将其严格控制在种公猪群内, 借以提高育成猪的发育速度和胴体质量, 这种策略要求确切了解种猪的遗传性能 (PSS 基因型), 花钱对父母代进行测试等, 然而这些开支应该是值得的, 因为一头种公猪可以产生上千头育成猪后代, 而且每一头会额外创造几美元的收益。

另一方面, 可维持和控制 PSS 突变基因, 使其从种猪群中根除。在当前由于非遗传性因素所造成的 PSE 高频率发生的情况下, 消除 PSS 基因也许有益于屠宰业和零售业、甚至消费者, 但对养殖来说是一件不利的事。然而, 由于近 3 / 4 的北美猪种已不带 PSS 突变基因, 显然肌肉的发育程度和瘦肉率已不是一个大问题。另外, 由于对瘦肉率、生长速度、饲料报酬等指标进行不断地遗传选育, 正常猪 (不带 PSS 基因) 的表现也在不断改进, 相对的 PSS 基因所带来的经济效益也越来越小。这一点在皮特兰猪得到验证。影响类胰岛素生长因子 2 的基因呈现多型性, 可起到相当于 PSS 基因的作用, 增加机体瘦肉率 (Nezer 等, 1999)。在皮特兰种公猪的使用过程中, 剔除 PSS 突变基因仍可保持较高的瘦肉率, 但降低了后代 PSE 的发生率 (Fabrega 等, 2004)。

在一些国家开始实施彻底根除 PSS 突变基因计划, 例如瑞典 (Vögeli 等, 1985)、芬兰 (Kuusmanen 等, 1993), 实践证明这种策略很成功, 且并未造成对胴体质量和猪肉品质的长期不良影响。在 20 世纪 90 年代末期, 丹麦等一些国家和国际养殖公司从他们选育的种猪中根除 PSS 突变基因 (Rosenvold 和

Anersen,2003; PIC,2003)。在丹麦,大部分猪不携带 PSS 突变基因,杂合体猪仅占 2% (Aaslyng 和 Barton Gade, 2001); 在加拿大,加拿大杂合体猪所占百分比已由 20 世纪 90 年代早期的 20%(O'Brien 等,1995)降到 2003 年的 5%(Du,2003)。在美国全国养猪协会 (NPPC: Miller, 1996) 也提倡彻底根除 PSS 基因,并由全国养猪注册处 (NSR,2004) 负责实施。但德国、比利时、澳大利亚等国使用携带有 PSS 基因的纯合体皮特兰公猪 (Burlot 和 Naveau,2003),在法国,皮特兰及皮特兰杂交公猪 (与大白猪杂交) 在一些种猪场中仍在使用的 (Burlot 和 Naveau,2003)。彻底清除这种基因可能会导致一种很易获得、经济实惠的既可增进胴体质量,又可提高生长速率的选育特性的丧失。

(译: 郎洪武 薛青红 校: 施振声)