



Universitat  
Autònoma  
de Barcelona

**IRTA**

Institut de Recerca  
i Tecnologia  
Agroalimentàries

---

---

**EFFECTE DEL GENOTIP HALOTÀ I LA LÍNIA PATERNA EN EL  
COMPORTAMENT, PRODUCTIVITAT, QUALITAT DE CANAL I  
CARN I BENESTAR ANIMAL EN PORCÍ**

*Memòria presentada per Emma Fàbrega i Romans  
per optar al grau de Doctora en Veterinària*

---

Els dibuixos de la portada han estat “reproduïts” a partir de contes dels *Tres Porquets*, amb la col·laboració de Ma Rosa Peralta Saguer, Marta Fàbrega Romans, Anna Salleras Fontané i Lluç Masclans Vidal per la recopilació de material i el disseny. Agraïments a tots ells.

*Pels meus pares*

*Pels meus germans i nebots*

*Per en LLuc*

***“ The real voyage of discovery consists  
not only in seeking new landscapes,  
but also in having new eyes ”***

*“El viatge real de la descoberta consisteix  
no sols en cercar nous paisatges,  
sinó també en disposar d'ulls nous”*

*M. Proust*

***“ To give an explanation of something may take away its mystery,  
but it does not take away our capacity to marvel at it ”***

*“ Trobar una explicació per quelcom potser desvetlla el seu misteri,  
però no elimina la nostra capacitat per meravellar-nos-en ”*

*M. S. Dawkins, **Unravelling Animal Behaviour***

## AGRAÏMENTS

---

La realització d'una tesi doctoral està sotmesa a aquella cita que diu aproximadament “és tan important la destinació com el camí”. Amb una mica de sort, i força feina, s'arriba a port. Amb encara més sort, es confirmen les hipòtesis que es van plantejar a l'inici. En tot cas, el camí és ben cert que no sol deixar indiferent al doctorand/a i que no és de cap manera possible sense la col·laboració de moltes persones. A totes elles els voldria agrair molt sincerament que m'hagin ajudat tant a nivell “professional” com personal, a fer més divertit i enriquidor aquest camí.

A n'en Xavier Manteca i l'Alejandro Diestre, per haver dirigit aquesta tesi amb dedicació i haver compartit amb mi el què sabien (molt) sobre els temes que s'hi tracten, per haver fet aquesta feina amb bon humor i entusiasme, i per la seva capacitat de ser uns caps que dominen l'equilibri que hi ha entre una bona amistat i una bona direcció. A n'en Xavier Manteca també voldria agrair-li que proposés el meu nom per participar en aquest projecte, malgrat ser conscient que llavors jo ja tenia “idees pròpies” i de les conseqüències que això podia comportar.

A n'en Pep Font, per tots els consells específics i “de la vida”, per compartir el molt que sap sobre el sector porcí i animar-me sempre amb el seu *karma* particular, per totes les hores de feina en horaris i climatologies variades. A n'en Pepe i en Willy per ajudar-me a navegar en un mar de dades confús, per fer-me perdre una mica la por a la paraula *estadística*, per la seva habilitat i coherència a l'hora de dissenyar experiments i protocols, i, sobretot, per convertir-se en uns bons amics. A la Marina, pels coneixements que m'ha aportat sobre qualitat de carn i sobre com analitzar i interpretar les dades que hi fan referència. A n'en Joan Tibau i en Joaquim Soler, per fer que un món que a mi em semblava inabastable com el de les *corbes de creixement*, ara em resulti més familiar, i sobretot per ajudar-me a interpretar la riuada de dades que produeix el SACA. A n'en Pep Fernández per donar-me la clau per depurar aquestes dades del SACA per la via directa, per totes les hores que va dedicar-hi ell que a mi m'han simplificat l'existència. A n'en Domingo Carrión per l'eficiència en tot allò que li he demanat.

A tothom que ha col·laborat activament en la realització dels experiments, per totes les hores intempestives que hi han dedicat i per fer-ho amb un somriure sempre a punt. A l'equip de la Universitat Autònoma, en Xavi, en Pepe, en Willy, les Gemmes, en Jaume, la Xènia, en Jorge, la Judit, i la Catiana, per l'ajuda sense condicions i tot terreny durant els experiments de transport i les observacions de comportament. Als del Centre de Control Porcí, en Martí, l'Albert, en Joan i en Narcís, per pesar i posar xips a molts porcs, sovint en condicions de benestar *humà* més que dubtoses. Als del Centre de Tecnologia de la Carn, l'Agustí, la Marina, la Ma José i en Jordi, per la feinada d'avaluar totes les canals, de nits, i

el dia següent tornar-hi. A tots els treballadors de les granges on vaig fer estades, especialment en Xavi i l'Antonio, per mirar-se amb bons ulls els experiments que vam fer i aportar idees pràctiques per millorar-los. Als transportistes i treballadors d'escorxador, especialment en Bartomeu i en Joan Franch, per la paciència de deixar-nos fer aquelles *proves rares* que van entorpir el seu ritme de feina.

A tots els companys “d'oficines” que han contribuït a fer que la feina fos una activitat no sols remunerada, sinó també molt agradable. A tots els del Centre de Control Porcí, l'Anna, la Neus, la Magda, en Quim, els Joans, els Narcisos, l'Albert, en Martí, en Jesus i la Pilar, per deixar-me ocupar la taula més ben situada del centre, fer-me un espai en tots els sentits, i per totes les tertúlies, discussions i pastissos que hem compartit. Als companys de la Unitat de Fisiologia i del Centre de Tecnologia de la Carn per fer que durant les meves estades curtes en aquests llocs em sentís molt bé.

A tots els amics i amigues que al llarg d'aquest temps han sentit a parlar de *benestar porcí* (?) i altres temes absolutament dantescos per ells, per haver-se'n rigut *moderadament* i sense mala intenció, i tot i així haver-me ajudat a creure en el què faig, però, sobretot, per recordar-me en tot moment que hi ha persones per qui val la pena aixecar-se cada matí amb il·lusió.

Als meus pares i germans, per l'esforç que han fet perquè pogués estudiar, i molt especialment per deixar-me viure la vida com m'agrada malgrat que els costi d'entendre-ho, per tot el molt que m'han ensenyat i m'ensenyen. Als meus nebots que em mantenen al corrent del què significa ser jove, estudiant i amb un món ple de possibilitats per davant.

A n'en Lluç, que malgrat incorporar-se al darrer tram d'aquesta cursa s'ha situat ràpidament en context sense un *road-book* molt detallat, perquè en cap moment ha fet cap d'aquelles preguntes que només els massa adults poden fer, per ajudar-me a mirar endavant en tot moment i amb intensitat, per disposar de l'habilitat de saber veure allò que és essencial i no necessàriament visible als ulls, com diu el Petit Príncep...per *ser-hi*.

I als que també van ser “companys” de fatigues durant un bon temps, els porcs dels quals vam obtenir dades a base d'observar-los indiscretament i sotmetre'ls a procediments poc regulars pels seus estàndards, tant de bo que els resultats compensin el seus “sacrificis”.

## ***GLOSSARI D'ABREVIACIONS***

---

Les abreviacions més freqüents que apareixen en aquest document són les següents:

CCP	Centre de Control Porcí
CTC	Centre de Tecnologia de la Carn
CPK	Creatina fosfo quinasa (de l'anglès <i>Creatine Phospho-Kinase</i> )
DFD	Fosca, dura i seca (de l'anglès <i>Dark, Firm and Dry</i> )
HN	Halotà Negatiu (referent a la prova de l'halotà)
HP	Halotà Positiu (referent a la prova de l'halotà)
LDH	Lactat Deshidrogenasa
NN	Porcs homozigots dominants pel gen de l'halotà
Nn	Porcs heterozigots pel gen de l'halotà
PSE	Pàl·lida, suau i exudativa (de l'anglès <i>Pale, Soft and exudative</i> )
PSS	Síndrome de l'estrès porcí (de l'anglès <i>Porcine Stress Syndrome</i> )
SACA	Sistema Automàtic de Control de l'Alimentació

A cada capítol es detallen les abreviacions concretes que s'hi utilitzen.

# **ÍNDIX**

---

<b>INTRODUCCIÓ GENERAL</b>	1
1. Aspectes generals	3
2. El gen de l'halotà: detecció i funcionament	6
3. El gen de l'halotà: efectes en la productivitat, la qualitat de la canal i la carn i la mortalitat	10
4. El gen de l'halotà: efectes en el comportament i el benestar animal	17
5. Alternatives comercials al gen de l'halotà	28
6. Bibliografia	30
<b>OBJECTIUS</b>	43
<b>ORGANIGRAMA GENERAL</b>	45
<b>CAPÍTOL 1</b>	
Behavioural patterns and responses to novelty in pigs: the effect of age, time of day and halothane genotype	49
<b>CAPÍTOL 2</b>	
Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on meat quality and welfare from two pig crosses	73
<b>CAPÍTOL 3</b>	
A comparison of halothane homozygous negative and positive Pietrain sire lines in relation to carcass and meat quality and welfare traits	95
<b>CAPÍTOL 4</b>	
Feeding patterns, performance and carcass traits in group housed growing-finishing pigs: the effect of terminal sire, halothane genotype and age.	121
<b>CAPÍTOL 5</b>	

Effect of the halothane gene on pre-slaughter mortality in two Spanish commercial pig abattoirs	145
<b>DISCUSSIÓ GENERAL</b>	151
1. Efecte del genotip halotà en el comportament i els indicadors fisiològics d'estrès	154
2. Efecte del genotip halotà en els paràmetres productius, la qualitat de la canal i de la carn i la mortalitat	158
3. Efecte de la línia paterna sobre el comportament alimentari, la productivitat i la qualitat de canal i carn	161
4. Implicacions pel benestar animal	164
5. Bibliografia	166
<b>CONCLUSIONS</b>	171



## GENERAL INTRODUCTION

### BACKGROUND

---

It became clear at the beginning of the 1960s that susceptibility of certain pig breeds to produce Pale, Soft and Exudative meat (PSE) had a marked genetic component (Briskey, 1964). Furthermore, PSE-proneness was also associated with the susceptibility to develop Porcine Stress Syndrome (PSS) (Briskey, 1964; Topel et al., 1969). Christian (1972) was the first to hypothesize that the inheritance of stress-susceptibility could be monogenic autosomal recessive with some variation in penetrance. Eikelenboom and Minkema (1974) demonstrated that PSS could be triggered by the anaesthetic gas halothane and this finding was the base for the halothane test, used to determine halothane genotype until new techniques have been recently available. The locus responsible for halothane sensitivity was called HAL, with two alleles N (normal, dominant) and n (halothane sensitivity, recessive) (Minkema et al., 1977). Numerous studies were conducted to analyse the effect of halothane gene on meat and carcass quality, comparing positive pigs to the halothane test (nn) with negative pigs (NN and Nn). Along this line, most investigations concluded that halothane gene could increase carcass lean content in nn pigs compared with NN and Nn, but inducing in turn an acceleration of the *postmortem* muscle pH fall, and consequently increasing the frequency of PSE meat. When Fujii et al. (1991) found the causative mutation for PSS in the gene encoding the fast-twitch fibre ryanodine receptor or calcium release channel (RYR1), a DNA test could be developed that accurately separates all three halothane genotypes. Then, the debate on new breeding strategies was focused on whether to use halothane carrier boars (Nn) or to select halothane free lines. The position of heterozygotes in relation to the other two genotypes has been a matter of scientific controversy. Some investigations have reported that they do have certain advantages in terms of carcass yield and lean content compared with NN pigs (Leach et al., 1996; Larzul 1997), but other works have found little effect of the n allele on carcass traits (McPhee and Trout, 1995; García-Macías et al., 1996). Moreover, pre-slaughter mortality rates have also been found to be higher among Nn pigs than NN (Murray and Johnson, 1998) and their responses to stressful stimuli may be more pronounced, thereby arising welfare concerns. This general introduction summarises what is known about the effects of halothane gene on meat and carcass quality, productivity, behaviour and welfare and briefly describes the new alternatives that are under investigation to substitute the gene in the breeding schemes.

---



## INTRODUCCIÓ GENERAL

### 1. ASPECTES GENERALS

El tracte que reben els animals d'abast es relaciona en bona mesura amb una major productivitat i qualitat final dels productes que se n'obtenen. En el cas de la producció porcina, el gen de l'halotà es podria considerar un bon exemple de confluència d'aspectes de benestar animal, productivitat i qualitat de la carn. La presència del gen (Hal-1843)<sup>1</sup> en la població porcina va augmentar arran d'esquemes de selecció basats en paràmetres de rendiments com el contingut de magre i de peces nobles com el pernil, que han estat tradicionalment els criteris dominants a l'hora d'establir els preus pels compradors. Un cop encetats aquests programes, però, es va fer evident que el gen de l'halotà també estava associat no sols amb problemes de qualitat de carn, sinó també amb una suposada major susceptibilitat dels individus portadors a estímuls considerats estressants. Per aquest motiu, malgrat que amb alguns anys de retard, es van iniciar línies de recerca per determinar el benefici final real del gen, així com també per plantejar possibles alternatives que permetessin obtenir canals porcines que satisfessin les expectatives del consumidor sense repercussions negatives en els animals, ni en la qualitat de la seva carn. En aquest sentit, el paràmetre “benestar animal” hauria d'estar inclòs en aquesta avaluació, no sols per qüestions ètiques i legals sinó també perquè pot esdevenir un element de pressió important per part de determinats grups de consumidors, amb conseqüències econòmiques pel sector porcí.

#### 1.1. Consideracions ètiques

Els sistemes de producció animal intensiva van aparèixer després de la Segona Guerra Mundial, per abastar les necessitats d'alimentació de la població a un baix preu en una situació de recessió econòmica (Whittemore, 1995). La implantació i proliferació d'aquests

---

<sup>1</sup> La marca registrada HAL-1843 és llicència de *The Innovations Foundation*, Toronto, Ontario, Canadà, propietària de la marca.

sistemes basats en la filosofia empresarial de minimitzar els costos d'inversió i producció van assolir el seu objectiu d'oferir al consumidor un producte de preu raonable, la qual cosa va fer augmentar el consum d'aliments d'origen animal. No obstant, aquests sistemes també van repercutir negativament en el benestar animal i van generar, alhora, una certa preocupació social, sobretot arran de la publicació de llibres com *Animal Machines* (Harrison, 1964). Es podria considerar que l'estudi científic del benestar animal va néixer com a resposta a aquestes demandes socials i ètiques, quan el govern britànic va encarregar un estudi sobre el benestar dels animals de granja a l'anomenat *Brambell Committee* (1965). Des de llavors la investigació per establir uns criteris científics per definir i avaluar el benestar animal ha augmentat conjuntament amb el debat social sobre les qüestions ètiques que l'envolten. Un dels resultats d'aquestes tasques és el què es coneix com a “Cinc Condicions” (de l'anglès *Five Freedoms*, Taula 1) elaborades pel *Farm Animal Welfare Council* (FAWC), que es podrien considerar un marc teòric-ètic per avaluar els requeriments necessaris per evitar problemes de benestar animal.

**Taula 1. FAWC “Cinc Condicions”(revisades el 1993, a partir de Webster 1995)**

---

**Absència de set, gana i malnutrició-** mitjançant l'accés a aigua i menjar per mantenir la salut.

**Absència d'incomoditat física-** proporcionant un ambient adequat que inclogui protecció i una àrea de descans adequada.

**Absència de dolor, dany o malaltia-** mitjançant la prevenció o el diagnòstic ràpid i tractament.

**Capacitat per realitzar la conducta normal-** proporcionant suficient espai, instal·lacions apropiades i la possibilitat de contacte social amb individus de la mateixa espècie.

**Absència de por i estrès intens i continuat-** assegurant les condicions que evitin el “sofriment mental”.

---

En l'actualitat, la sensibilització social envers temes de benestar animal ha anat prenent més rellevància, especialment en els països del Nord d'Europa. Aquesta tendència s'ha associat en gran mesura amb l'augment del percentatge de població urbana, amb menor dependència econòmica directa dels animals i desvinculada dels problemes pràctics de la ramaderia (Appleby *et al.*, 1992). Aquest fenomen de migració cap a les ciutats també s'ha

experimentat en el nostre país i caldria esperar, doncs, un augment de l'interès pels temes de benestar animal.

El gen de l'halotà, tal i com es descriurà més detalladament, s'ha vinculat a problemes de benestar indiscutibles com una més elevada mortalitat durant el transport i l'espera a l'escorxador, a més d'una tendència clara d'obtenir carn de mala qualitat. Si a més es pot demostrar una major susceptibilitat a l'estrès en els animals portadors, això estaria en clara contradicció amb la cinquena de les Condicions esmentades i constituiria un altre motiu per associar el gen amb problemes de benestar.

## **1.2. Marc legal**

L'augment de la preocupació social envers el benestar animal ha conduït la Unió Europea a dictar una legislació on queden recollits aspectes diversos per a la protecció i el benestar animal. En el cas del bestiar porcí, existeixen directives comunitàries com per exemple la Directiva 91/630/CEE o la 2001/88/CE que estableixen les mínimes normes per a la seva protecció o la Directiva 95/29/CE establint normes pel transport d'animals i que han estat ratificades pel govern de l'Estat Espanyol. Tot i que el gen de l'halotà no figura en una normativa explícita, l'objectiu de les lleis europees està enfocat a reduir el patiment innecessari dels animals. Una elevada mortalitat o episodis d'estrès importants poden sumar-se a d'altres factors que sí que estan legislats com les condicions de transport o d'allotjament dels animals a l'hora de desencadenar problemes de benestar.

## **1.3. Repercussions econòmiques**

L'Estat Espanyol és actualment el segon productor de carn de porcí de la Unió Europea, però els estudis realitzats pel propi sector porcí indiquen que la tendència del mercat és de constant creixement i que podria esdevenir el principal productor comunitari. La comercialització dels productes a d'altres països pot estar condicionada al fet que els productors puguin garantir que els estàndards de benestar animal exigits per certs grups de consumidors s'han assolit.

D'altra banda, les conseqüències econòmiques del gen de l'halotà es relacionen no sols amb una garantia de benestar animal, sinó també amb el fet que s'ha suggerit que el gen és un dels responsables destacats de problemes de qualitat de carn (sobretot carns PSE,

pàl·lides, toves i exudatives, de l'anglès *Pale, Soft and Exudative*, Cassens et al., 1975). La depreciació d'aquestes carns conjuntament amb les pèrdues econòmiques degudes a la mortalitat elevada, representen una disminució important dels rendiments que els productors podrien obtenir. En aquest sentit, si la qualitat de carn o la seva devaluació figurés entre els criteris de pagament de les canals porcines, els beneficis que els porcs portadors del gen aporten en quantitat de magre o conformació probablement disminuirien notòriament.

El treball que s'exposa a continuació té com a objectiu fer una avaluació amb un espectre ampli dels efectes del gen de l'halotà, en diferents estadis de la producció porcina (des de la maternitat fins a l'escorxador). Per aquest motiu, la revisió bibliogràfica d'aquesta introducció general vol presentar una visió genèrica de:

1. Què es coneix del gen de l'halotà i el seu funcionament.
2. Quins són els seus efectes més coneguts (sobretot en l'àmbit de la qualitat de canal i carn i la mortalitat en transport i espera) i els seus efectes poc coneguts (sobretot en relació amb el comportament i el benestar animal).
3. Quines alternatives comercials s'estan començant a plantejar.

## **2. EL GEN DE L'HALOTÀ: DETECCIÓ I FUNCIONAMENT**

### **2.1. Descobrimet del gen**

A principis dels anys 60, la possibilitat que existís un component genètic en la tendència de determinades races de porcs a produir carns PSE es va fer evident, sobretot gràcies a les investigacions de científics danesos i americans (Briskey, 1964). A més, es va descobrir que aquesta tendència estava estretament associada a l'anomenada "síndrome de l'estrès porcí" (PSS) (revisat per Briskey, 1964; Topel et al., 1969 i Judge, 1972). Christian (1972) va plantejar la hipòtesi que la susceptibilitat a l'estrès d'aquestes races fos deguda a una mutació autosòmica recessiva en un únic gen de penetrància incompleta. Aquesta hipòtesi va ser confirmada per Ollivier et al. (1975), Minkema et al., (1977) i Smith i Bampton (1977). El 1974 Eikelenboom i Minkema van demostrar que la síndrome de l'estrès porcí es podia induir mitjançant la inhalació del gas anestèsic halotà. Per aquest motiu, el locus

responsable de la sensibilitat a l'estrès es va anomenar HAL, amb dos al·lels N (normal, dominant) i n (sensible a l'halotà, recessiu). Més endavant, Webb et al. (1982), en un treball de revisió dels aspectes genètics associats a la PSS, van argumentar que el gen podia comportar-se com a recessiu en relació a la PSS, però com a additiu pel què fa a la quantitat de magre, i que la seva penetrància en determinades races es podria veure modificada per altres loci. Darrerament, s'ha suggerit que el mecanisme hereditari del gen de l'halotà es basa en un gen recessiu amb una elevada penetrància de l'al·lel n sobre l'estat homozigot (0.9 o similar amb els actuals mètodes de detecció del gen, Sellier i Monin, 1994).

## **2.2. La prova de l'halotà i la síndrome de l'estrès porcí**

El terme síndrome de l'estrès porcí (PSS) fa referència a tot un seguit de símptomes que manifesten determinats individus davant d'alteracions de les seves condicions mediambientals normals, com poden ser un augment de la temperatura ambiental, la realització d'exercici muscular intens, lluita entre animals o el transport (Whittemore, 1993). Entre els símptomes que caracteritzen aquesta síndrome destaquen els tremolors i la rigidesa muscular, l'increment del ritme respiratori, l'acidosi sistèmica i un increment de la temperatura corporal (hipertèrmia).

En l'actualitat, arran de les investigacions que es detallen més endavant, se sap que l'aparició de la síndrome de l'estrès porcí és el resultat d'un increment de forma sobtada i sostinguda de la concentració de calci en el citoplasma de les fibres musculars dels animals afectats. Fuji et al. (1991) van identificar una mutació en el canal alliberador del calci que sofreixen els individus portadors del gen de l'halotà. El reticle sarcoplasmàtic i els mitocondris no poden segrestar els elevats nivells de calci que són alliberats perquè el canal no tanca com ho faria en els individus lliures del gen i això activa l'aparell metabòlic i contràctil del múscul esquelètic. El resultat d'aquesta acceleració del metabolisme muscular donaria lloc a les característiques de les carns PSE quan els animals no moren durant el transport o l'espera, a més de desencadenar els símptomes de la PSS.

Eikelenboom i Minkema (1974) van observar que després de fer inhalar una mescla d'halotà i oxigen a porcs joves, alguns desenvolupaven un quadre clínic similar al de la síndrome de l'estrès porcí, conegut com a "hipertèrmia maligna". La hipertèrmia maligna és un desordre muscular de transmissió hereditària que es va descriure per primera vegada

en humans l'any 1960 i que es considera una patologia farmaco-genètica (Louis et al., 1990). És a dir: un defecte genètic que es desencadena mitjançant un fàrmac, com el gas halotà (2-cloro-1,1,1-trifluoroetà) o alguns relaxants musculars no despolaritzants (com el suxametoní; Hall et al., 1966). D'aquesta manera els individus exempts de la mutació no presenten els símptomes en ser sotmesos a l'anestèsic. Aquesta és la base de la prova que durant molt temps es va utilitzar per detectar els animals predisposats a desenvolupar la PSS, anomenada "prova de l'halotà". En l'actualitat es considera que les diferències entre la hipertèrmia maligna en humans i la PSS són més quantitatives que no qualitatives, de manera que en porcs l'expressió de la malaltia és més pronunciada i es desencadena amb molta més freqüència davant de situacions estressants que no en humans (pels quals també s'ha descrit algun cas d'hipertèrmia maligna induïda per estrès, Louis et al., 1990).

La prova de l'halotà consisteix a fer inhalar a garrins d'entre 6 i 15 setmanes d'edat una barreja d'halotà (4-8%) i oxigen (de 2 a 3 litres/minut), durant aproximadament 5 minuts (tot i que no tots els autors usen el mateix temps). Els animals que durant l'aplicació estan relaxats i no manifesten cap símptoma de la hipertèrmia maligna (rigidesa muscular, augment de la temperatura i ritme respiratori, taques violàcies a la pell durant el primer minut), es classifiquen com a halotà negatius (HN) o bé resistent a l'estrès. Si hi ha reacció, es qualifiquen com a halotà positius (HP) o bé sensibles a l'estrès.

El test de l'halotà presenta limitacions importants quant a la seva metodologia, resultats i conseqüències pels animals. En primer lloc, no permet distingir entre els individus homozigots dominants (NN) i els heterozigots (Nn), que són classificats tots com a HN. En segon lloc, la penetrància del gen entesa com el percentatge d'animals homozigots recessius (nn) que responen al test, sembla variable segons autors diferents (Sellier i Monin, 1994). Això es pot atribuir a l'elecció d'una durada arbitrària, potser no suficient per alguns individus (Blasco i Webb, 1989) o a l'estat fisiològic de l'animal en el moment de fer el test (van den Hende, 1979) i pot resultar en l'aparició d'alguns falsos negatius. En tercer lloc, resulta un test bastant agressiu pels animals, qüestionable des de la perspectiva del benestar animal.

### **2.3. Els marcadors genètics i les tècniques de PCR per la detecció del gen**

Les mancances de la prova de l'halotà s'han anat superant mitjançant el desenvolupament d'altres mètodes com:



1. L'estudi de l'activitat dels enzims sèrics (per exemple creatina quinasa, CK) o la biòpsia muscular (per realitzar tests com el test de contractura per cafeïna, *In Vitro Contracture Test*; O'Brien et al., 1990; Seewald et. al, 1991).
2. La informació que s'ha obtingut a partir de tècniques de genètica molecular com les que es descriuen a continuació.

D'una banda, a finals dels 70 ja es van descriure associacions entre alguns al·lels situats en loci de certs grups sanguinis<sup>2</sup> i una qualitat de la carn baixa (Jorgensen, 1979). Andresen (1987), però, va suggerir que aquests al·lels no tenien un efecte *per se* sinó que es devia segurament a què estaven situats en la mateixa regió cromosòmica que el locus HAL. L'associació preferent de l'al·lel n amb alguns d'aquests al·lels marcadors (per exemple H<sup>a</sup> o GPI<sup>B</sup> o PGD<sup>A</sup>) s'ha descrit com una propietat que es podria usar per la detecció del gen per mitjà de mostres sanguínies (Andresen, 1987). Aquest grup de lligament on se situa el locus HAL es va localitzar en el cromosoma 6 porcí i es va mapejar des del centròmer fins al punt q2.5 (Chowdhary et al. 1989, 1991).

D'altra banda, altres investigacions a nivell molecular en animals sensibles a l'estrès van mostrar que existia una mutació en una proteïna que forma el canal d'alliberació del calci del reticle endoplasmàtic del múscul esquelètic (Knudson et al., 1990; Louis et al., 1990). Aquesta proteïna es va anomenar receptor de la Ryanodina (RYR1). Harbitz et al. (1990) i Chowdhary et al. (1991) van localitzar el locus RYR1 a la regió p1.1-q2.1 del cromosoma 6, amb una elevada probabilitat que fos en el braç q en el segment centròmer-q2.1, on també s'havia localitzat el locus HAL. Aquests estudis coincidien amb les troballes en relació al gen responsable de la hipertèrmia maligna en humans, que se situava en el cromosoma 19 (q13.1-13.2) (McCarthy et al., 1990), on també s'havia localitzat el gen del receptor de la Ryanodina (McKenzie et al., 1990).

Més endavant, Fuji et al. (1991) van localitzar la mutació en el locus RYR1 mitjançant la tècnica de la reacció en cadena de la polimerassa (PCR). Aquesta mutació consisteix en

---

<sup>2</sup> Bàsicament: els sistemes de grups sanguinis S(A-O) i H, la Glucosa-Fosfat Isomerasa (GPI), la 6-Fosfogluconat Deshidrogenasa (PGD) i l'alpha-1-B-glycoprotein (A1BG). Actualment, es considera que l'ordre del locus és: S(A-O)-HAL-GPI-H-A1BG-PGD (Vögeli, 1989; Otsu et al., 1991)

la substitució d'una Citosina (C) en el nucleòtid 1843 de l'individu no sensible per una Timina (T) en la cadena d'ADN de l'animal sensible. Aquesta substitució provoca un canvi en la seqüència d'aminoàcids d'una arginina en la posició 615 en l'animal no sensible per una cisteïna en l'animal sensible. Aquests resultats suggereixen que la Arg<sup>615</sup> està localitzada en la superfície del canal d'alliberació del Ca<sup>2+</sup>, i que està implicada en la regulació de l'obertura del canal del calci. Tal i com ja s'ha avançat, la seva alteració provocaria una "hipersensibilitat" per l'obertura d'aquest canal i explicaria les característiques PSE en la carn dels animals portadors del gen i els símptomes de la PSS. Més recentment, Küchenmeister et al. (1999) han trobat que la capacitat de segrestar Ca<sup>2+</sup> del reticle endoplasmàtic del múscul dels individus nn també podria ser inferior que no la dels NN. Aquests resultats suggereixen que els porcs portadors del gen no tindrien sols un problema associat al canal d'alliberació del Ca<sup>2+</sup>, sinó també en l'operativitat de la bomba de Ca<sup>2+</sup>.

La troballa de Fuji et al. (1991) ha donat lloc al desenvolupament de tècniques de detecció del gen que permeten identificar els tres possibles genotips d'una forma ràpida, acurada i poc invasiva (Sellier i Monin, 1994). Aquests mètodes es basen en l'extracció d'ADN de mostres com un fragment de cua o orella o fol·licles pilosos; l'amplificació del fragment d'ADN que conté el gen mitjançant tècniques de PCR i la seva posterior digestió amb enzims de restricció que tallen la cadena en el punt on se situa la mutació (depenent de l'enzim utilitzat reconeix la seqüència normal (Hin P1) o la mutada (Hgi AI). D'aquesta manera, en el gel d'electroforesi apareixen un nombre diferent de bandes per cadascun dels genotips (3 pels heterozigots i 1 o 2 pels homozigots dominants o recessius en funció de l'enzim usat).

### **3. EL GEN DE L'HALOTÀ: EFECTES EN LA PRODUCTIVITAT, LA QUALITAT DE LA CANAL I LA CARN I LA MORTALITAT**

Tal i com s'ha descrit, l'estudi del gen de l'halotà ja es va iniciar al voltant dels anys 60, i des de llavors s'han dut a terme moltes investigacions per analitzar els seus efectes bàsicament en els àmbits de la qualitat de la carn i la canal. La gran majoria d'aquests estudis coincideixen en el fet que el gen en individus nn (HP en la prova de l'halotà) presenta efectes beneficiosos sobre els caràcters relacionats amb la qualitat de canal, en detriment dels efectes en la qualitat de la carn (Oliver et al., 1993; de Smet et al., 1995;

Leach et al., 1996; Fisher et al., 2000; Gispert et al., 2000) i la mortalitat dels animals (McPhee et al., 1994; Murray i Johnson, 1998). La controvèrsia recent, però, s'ha centrat en el lloc que ocupen els individus Nn en relació amb els altres dos genotips, perquè una de les estratègies comercials per evitar els problemes dels individus nn com a animal de sacrifici es fonamenta a utilitzar línies maternes NN creuades amb línies paternes nn o Nn, segons les necessitats de mercat (Gregory, 1998). En l'actualitat, la possibilitat d'identificar acuradament els tres genotips ha permès caracteritzar millor els individus Nn.

### **3.1. Efectes del gen de l'halotà en els paràmetres productius**

La bibliografia en relació als paràmetres productius i el gen de l'halotà mostra discrepàncies de resultats. En general, en comparar el grup HP i HN (incloent Nn i NN), es van observar diferències no significatives pel què fa a la taxa de creixement, però un millor índex de conversió pels individus HP (Webb et al., 1982). Malgrat això, alguns autors no han confirmat aquest millor índex de conversió dels individus HP (Jensen i Barton-Gade, 1985; Larzul et al., 1997). A més, altres estudis indiquen que el guany mig diari és inferior en el grup HP comparats amb els individus lliures del gen (de Smet et al., 1998).

La discussió més important, però, es refereix a la comparació dels individus heterozigots en relació als homozigots dominants. En termes generals, les diferències entre ells són petites o no significatives (Sather et al., 1991; Pommier et al., 1992; Leach et al., 1996). Alguns autors han descrit que no existien diferències significatives en el guany mig diari (Sather et al., 1991; Pedersen et al., 2002) i d'altres que sí que se'n podien observar (superior pels heterozigots segons Pommier et al. 1998 o inferior segons de Smet et al., 1998). Recentment, s'ha suggerit que les diferències de creixement entre els individus NN i Nn podrien ser depenents de l'edat, de manera que en animals d'edats properes a les de sacrifici els porcs Nn mostrarien un creixement més ràpid que no els NN i la relació seria inversa en porcs més joves (Tor et al., 2001). Igualment, alguns estudis han mostrat una índex de conversió més elevat pels individus heterozigots (McPhee et al., 1994; O'Brien et al., 1994; Leach et al., 1996), que tampoc ha estat confirmat per altres autors (Larzul et al., 1997; Miller et al., 2000).

### 3.2. Efectes del gen de l'halotà en la qualitat de la canal o de la carn

El gen de l'halotà s'accepta com un dels gens majors que afecta els paràmetres que caracteritzen la qualitat de la carn (Sellier i Monin, 1994, de Vries et al., 1998, 2000). Un gen (per exemple HAL) es defineix com a major quan la diferència entre el valor mig dels individus homozigots pel gen (nn) i el dels que no el porten (NN) és igual o superior a una desviació estàndard fenotípica pel tret d'interès que s'estudia. En principi, els gens majors presenten un efecte prou important com perquè puguin ser detectats analitzant les característiques fenotípiques de les famílies on el gen segrega. No obstant això, el gen de l'halotà s'ha constituït també com un clar exemple de com les condicions ambientals (interacció Genotip×Ambient, G×A) poden influir els efectes del gen (de Vries, et al. 1998, 2000). Aquesta interacció juntament amb altres que poden aparèixer amb altres gens (interacció Genotip×Genotip), explicarien la gran variabilitat de resultats que recull la bibliografia sobre el gen de l'halotà. El fet que molts d'aquests estudis es realitzin usant races o pràctiques de sacrifici i protocols *ante* o *post-mortem* diferents pot afectar les diferències entre els individus de cada genotip (Monin et al., 1981; Sellier i Monin, 1994).

#### 3.2.1. Qualitat de la canal

A grans trets, sembla acceptat que el gen augmenta el contingut de carn magre de la canal, tot i que resulta difícil extreure una conclusió general de la discussió degut a les diferents condicions de sacrifici (de Vries et al., 2000). Aquest augment en el contingut de magre estaria associat a una reducció en la proporció de greix i os i a una millor distribució del pes corporal (Oliver et al., 1993). Recentment, s'ha suggerit que els individus portadors del gen presenten una taxa de creixement de les fibres musculars superior deguda a una elevada proliferació de cèl·lules satèl·lit i capacitat de síntesi proteica. Això conjuntament amb una taxa de deposició de greix inferior explicaria el contingut en magre superior de les canals d'individus portadors (Pedersen et al., 2002). Malgrat això, existeix controvèrsia sobre el comportament genètic de l'al·lel n en els individus heterozigots, de manera que s'ha descrit com a recessiu o com a additiu (Leach et al., 1996). Sather et al. (1991) van postular la hipòtesi que la relació dominància-recessivitat pels dos al·lels HAL podria dependre del pes de sacrifici dels porcs, perquè ells van observar una interacció entre el pes al sacrifici i el genotip pel què fa a contingut de magre i trets de qualitat de carn. Aquesta

hipòtesi, però, no ha estat confirmada en estudis posteriors (García-Macías et al., 1996; Leach et al., 1996; Larzul et al., 1997). També s'ha suggerit que els efectes del gen de l'halotà en la qualitat de canal podien ser mediats per la raça, de manera que, per exemple, O'Brien et al. (1994) va trobar que l'heterozigositat augmentava en un 2.8% el contingut de magre en porcs Landrace i en un 4.1% en Large White. Jensen i Barton-Gade (1985) i, més recentment, Guéblez et al. (1995) van trobar que els individus heterozigots presentaven un espessor de greix dorsal inferior i una major àrea de múscul *Longissimus thoracis* comparat amb els porcs homozigots lliures. Per contra, altres autors han trobat que l'al·lel n mostrava molt poc efecte sobre aquests caràcters de qualitat de canal (McPhee i Trout 1995; García-Macías et al., 1996; de Smet et al., 1996). En rendiment de la canal, també han aparegut estudis que situen els individus heterozigots per sobre dels homozigots NN (Pommier et al., 1992; Leach et al., 1996; Pommier et al., 1998) o d'altres que no han trobat diferències (Sather et al., 1991; Rempel et al., 1995; Hamilton et al., 2000). La mateixa dicotomia sorgeix en relació al percentatge de peces nobles, que sol ser superior en els individus Nn (Rempel et al., 1995; Leach et al., 1996), però que en ocasions s'ha descrit com a molt similar (Fisher et al., 2000; Miller et al., 2000).

### 3.2.2. *Qualitat de la carn*

Sens dubte, un dels problemes principals associats amb el gen de l'halotà ha estat la seva relació amb l'aparició de carns PSE. Aquest tipus de carns poden aparèixer en individus lliures del gen de l'halotà que hagin estat sotmesos a unes condicions estressants abans del sacrifici, però és molt més freqüent en els individus portadors del gen de l'halotà (Gregory, 1998). Les carns PSE apareixen quan després del sacrifici es produeix una acidificació molt ràpida del múscul mentre la seva temperatura encara és elevada. La tendència a desenvolupar aquesta ràpida acidificació està altament influïda pel genotip de l'animal, tot i que l'estrès previ al sacrifici col·labora en aquesta situació perquè pot fer augmentar la concentració d'àcid en el múscul i augmentar la temperatura corporal del porc. La Taula 2 mostra una llista de les races porcines amb més tendència a produir carns PSE que coincideixen amb les que són més sensibles a la PSS (de Gregory, 1998).

**Taula 2. Susceptibilitat a produir carns PSE i patir PSS en diferents races porcines (modificat a partir de Gregory, 1998)**

<b>Susceptibilitat alta</b>	<b>Susceptibilitat mitjana</b>	<b>Susceptibilitat baixa</b>
Pietrain	Landrace holandès	Large White irlandès
Landrace belga	Landrace francès	Large White australià
Poland China	Landrace suec	Large White francès
Landrace alemany	Landrace suís	Yorkshire americà
	Landrace anglès	Large White anglès
	Landrace danès	Duroc
	Landrace noruec	
	Landrace australià	
	Landrace irlandès	
	Yorkshire holandès	
	Hampshire americà	

Les carns PSE apareixen com a conseqüència dels elevats nivells de calci en el citoplasma del múscul deguts a la mutació en el receptor de la RYR1. El calci activa el trencament d'ATP perquè augmenta l'activitat de la miosina-ATPasa i això provoca la contracció muscular i la ràpida aparició del *rigor mortis* abans de la primera hora després del sacrifici (en les canals normals es produeix entre les 4 i 5 hores després del sacrifici). Aquesta elevada concentració de calci també provoca una acceleració de la glicòlisi, un augment ràpid de l'àcid làctic i la disminució excessiva del pH. Es considera que una carn és susceptible de ser PSE quan el pH mesurat als 45 minuts després del sacrifici és inferior a 6 (Bendall, 1966). Aquest pH baix associat a una temperatura muscular alta produeix la desnaturalització de les proteïnes solubles del múscul que precipiten sobre les estructurals. Aquest fenomen disminueix la capacitat de retenció d'aigua del múscul i es formen exudats en la carn. La capa de proteïnes precipitades també proporciona la coloració pàl·lida de la carn PSE (Gregory, 1998). La tendència a desenvolupar la condició PSE també està influïda pel tipus de metabolisme muscular. Així els anomenats músculs blancs (per exemple *Longissimus thoracis*, *Semimembranosus* o *Biceps femoris*) presenten

predominantment un metabolisme anaeròbic, amb un major contingut de fibres glicolítiques i són més propensos a produir carns PSE (Briskey i Wismer-Pedersen, 1961). Per contra, músculs com el *Quadriceps femoris*, *Serratus ventralis* o *Adductor* amb un contingut en fibres vermelles oxidatives superior, un metabolisme bàsicament aeròbic i un menor potencial glicolític, tenen menys tendència a desenvolupar la condició PSE (Briskey, 1964) i es consideren més bon indicadors de l'estat DFD (fosca, dura i seca, de l'anglès *Dark, Firm and Dry*) de la canal.

Cal esmentar, però, que darrerament s'ha qüestionat si el terme PSE era del tot adequat, perquè s'ha suggerit que la capacitat de retenció d'aigua i el color de la carn podrien ser el resultat, almenys en bona part, de fenòmens biològics previs al *rigor mortis* diferents (van Laack et al., 1994; de Smet et al., 1996). Això explicaria que en alguns estudis sobre l'efecte del gen de l'halotà s'obtingui un efecte sobre el percentatge de pèrdues però no efecte en el percentatge de PSE o al revés. En aquest sentit, Warriss i Brown (1987) o van Laack et al. (1994) van observar una baixa correlació entre color i pèrdues d'aigua, que van presentar una relació bifàsica.

Novament, també existeix controvèrsia sobre les característiques dels individus heterozigots pel què fa a la seva tendència a produir carns PSE. Alguns autors han situat els individus Nn més a prop dels porcs nn (Pommier i Houde, 1993), altres més propers als NN (Wolf-Schwerin i Kalweit, 1991) i també s'han situat en una posició intermèdia entre els dos homozigots (Rundgren et al., 1990). En tot cas, la majoria d'estudis coincideixen en el fet que la incidència de carns PSE és superior entre els individus Nn que no entre els NN (Topel et al., 1976; Klont et al., 1994; Pommier et al., 1998, Fisher et al., 2000). També sembla acceptat, en general, que aquestes carns presenten una palatabilitat més baixa de cara al consumidor (Topel et al., 1976; Jeremiah et al., 1999; Monin et al., 1999; Hamilton et al., 2000) i impliquen més problemes pel seu processament i un rendiment tecnològic més baix (Oliver et al., 1993; Fisher et al., 2000).

### 3.3. El gen de l'halotà i la mortalitat

MacPhee et al. (1994) van mostrar que la taxa de mortalitat durant el transport diferia entre els animals de diferent genotip halotà, essent el doble pels heterozigots i deu vegades superior en els animals homozigots recessius respecte als lliures del gen, en condicions

climàtiques tropicals. Aquestes pèrdues durant el transport es deuen a la hipertèrmia maligna i la seva interacció amb les condicions ambientals (Warriss i Brown, 1994).

El quadre clínic de la hipertèrmia maligna també s'explica per l'acceleració de les vies metabòliques del múscul degudes a les elevades concentracions de calci. Es produeix un quadre de rigidesa muscular permanent que esgota el glicogen, les reserves d'ATP i provoca la formació de diòxid de carboni, àcid làctic i calor. L'increment en la producció de calor juntament amb la vasoconstricció perifèrica produeixen la hipertèrmia (O'Brien et al., 1987). Així mateix, el metabolisme anaeròbic causa cianosi (Gronert, 1980). Durant aquest procés es produeix hipercalièmia deguda a la glicogenòlisi i acidèmia, que augmenta el ritme cardíac. A més, el sistema neuroendocrí simpàtic allibera una gran quantitat de catecolamines que provoquen taquicàrdies, arrítmies, vasoconstricció perifèrica i augment de la glicogenòlisi. Darrerament, també s'ha suggerit que les alteracions de les funcions cardíques associades amb el gen, no són només una conseqüència de l'estrès tèrmic, sinó que hi hauria diferències en el propi miocardi i l'expressió d'alguns enzims cardíacs en els animals portadors (Liou et al., 2000).

Van logtestijn et al. (1982) i Warriss i Brown (1994) van assenyalar que la PSS es dona més fàcilment a temperatures altes (>28° C), perquè la freqüència cardíaca i el ritme respiratori s'acceleren significativament. Els porcs són molt sensibles a l'estrès tèrmic per les dificultats que presenten de dissipar efectivament la calor. Altres factors previs al sacrifici que poden interaccionar amb el genotip i afectar no sols la mortalitat, sinó també els paràmetres de qualitat de carn, són la densitat de càrrega en el camió, el dejuni i la durada del transport i de l'espera.

Christensen et al. (1994) van indicar que les taxes de mortalitat durant el transport i espera són diferents quan es comparen diversos països europeus. A països com Alemanya i Bèlgica, on la demanda de canals ben conformades és elevada, les taxes de mortalitat són més altes (0.5-0.3%, respectivament). En canvi, en països com Dinamarca, on la qualitat de la carn ha estat inclosa en els programes de creuament i s'han fet esforços per eliminar el gen de l'halotà, el percentatge de mortalitat ha caigut del 0.1 (1972) a 0.03% (1993). Tot i que les condicions de transport i ambientals varien entre aquests països i també afecten les taxes de mortalitat (van Logtestijn et al. 1982; Warriss i Brown, 1994), sembla evident que el gen de l'halotà juga un paper clau en aquestes diferències entre països. Aquests resultats també han estat confirmats a Canadà, on Murray i Johnson (1998) van trobar freqüències de mortalitat de 9.2, 0.27 i 0.05% per individus nn, Nn i NN, respectivament.



## **4. EL GEN DE L'HALOTÀ: EFECTES EN EL COMPORTAMENT I EL BENESTAR ANIMAL**

### **4.1. El comportament animal com a eina d'avaluació del benestar**

Els principals problemes als quals s'ha enfrontat la comunitat científica per investigar sobre el benestar animal han estat la manca d'acord sobre com es defineix aquest concepte i la recerca de paràmetres per mesurar-lo objectivament.

Les definicions sobre benestar animal han estat diverses i es podrien agrupar, en termes generals, en tres grans aproximacions: la basada en l'adaptació de l'animal, la basada en els "sentiments" i la basada en el repertori de comportaments "natural". Per la primera, la dificultat per objectivar conceptes com "sofriment", "ansietat", fa que els paràmetres basats en el funcionament biològic (com les malalties, conducta, mortalitat) semblin més adients per definir el benestar, tot i que l'experiència subjectiva de l'animal pugui influir (Broom, 1991, Gonyou, 1993). Una de les definicions més àmpliament citades és la de Broom (1988) per la qual el benestar és "l'estat d'un individu en relació amb els seus intents d'adaptar-se a l'ambient". El segon corrent considera que és l'experiència subjectiva de l'animal la que constitueix el punt clau del benestar (Duncan i Dawkins, 1983; Sandøe i Simonsen, 1992). El tercer considera que els animals haurien de poder realitzar tot el repertori de conductes que realitzarien en condicions naturals, tot i que ha estat força criticada per les seves mancances per establir criteris sobre què és "natural" (Dawkins, 1980). Evidentment, la definició emprada per diferents científics ha condicionat el tipus de mesures que han emprat per avaluar el benestar objectivament (Mason i Mendl, 1993). En l'actualitat, prenent com referència les "Cinc Condicions" (veure pàgina 4), s'accepta que una sola mesura del benestar pot produir conclusions errònies, i que cal una integració de diversos indicadors: fisiològics, de comportament, patològics i productius (Broom i Johnson, 1993).

En aquest sentit, l'estudi del comportament pot contribuir per diverses raons a aclarir tant els problemes de definició del benestar com els de la seva mesura. En primer lloc, la

informació sobre la funció, desenvolupament, control o evolució<sup>3</sup> d'un comportament, pot ajudar a entendre què significa en termes de benestar animal el fet que aquella conducta s'expressi en unes determinades circumstàncies (Duncan, 1995). D'aquesta manera, l'aparició del què es coneix com a "comportaments anormals" (per exemple estereotípies o conductes redirigides) en algunes espècies de producció es considera un signe de patiment (Petherick i Rushen, 1997) i requereix un coneixement previ sobre quina és la conducta normal.

En segon lloc, s'ha argumentat que les diferències de conducta entre els animals confinats a granges i aquells que viuen en condicions menys restrictives no ha d'implicar necessàriament un compromís del seu benestar (Dawkins, 1980). Així, es va considerar que un animal veia el seu benestar limitat quan no podia realitzar determinades conductes que li eren necessàries, o per les quals se sentia motivat (Hughes i Duncan, 1988; Dawkins, 1990). S'han dissenyat diversos mètodes per mesurar el grau de motivació, com els tests de preferència basats en la teoria econòmica del consum-demanda i que usen el comportament com a paràmetre bàsic (és a dir: com més motivat estigui un animal per realitzar una determinada conducta, més "pagarà" per aconseguir-ho).

En tercer lloc, per l'aparició d'una disciplina com l'etologia cognitiva, que pretén donar respostes a qüestions com al grau de "consciència" dels animals dels seu patiment. En aquesta línia, s'ha suggerit que la valoració de quines pràctiques són acceptables depèn en bona mesura d'aquest grau de coneixement que els animals puguin tenir del seu propi estat (Griffin, 1992).

En termes generals, s'han realitzat pocs estudis sobre l'efecte del gen de l'halotà en el comportament dels porcs. La majoria de les investigacions s'han centrat en contextos com el transport, probablement a causa de la repercussió econòmica que implica la major incidència de mortalitat entre els individus portadors. Tal i com es detalla en els següents apartats, el què es coneix sobre la influència del gen de l'halotà en la conducta es basa fonamentalment en la seva suposada vinculació amb l'estrès.

---

<sup>3</sup> Funció, Desenvolupament, Control i Evolució constitueixen els quatre problemes (coneguts també com a *4 Why's*) que calia respondre per estudiar el comportament segons Niko Tinbergen

## **4.2. El gen de l'halotà i l'estrès**

El gen l'halotà s'ha relacionat estretament amb el concepte d'estrès, bàsicament perquè la PSS es pot desencadenar en situacions que es consideren “estressants” durant el maneig dels animals. La bibliografia sobre el gen de l'halotà es basa en la idea que els individus portadors del gen són genèticament més susceptibles a l'estrès. La connotació negativa que sovint s'atribueix a aquest concepte fa que es consideri un indicador clar de problemes de benestar.

El concepte d'estrès, però, és molt complex i, al igual que sobre el de benestar, existeix una discussió important sobre la seva definició i efectes. Moberg (1987) va apuntar que la dificultat per establir una definició del terme es deu a què no s'ha pogut resoldre quatre grans problemes: el desacord sobre quines respostes fisiològiques són millors per mesurar l'estrès; la manca d'una resposta inespecífica comú a tots els agents stressants; la variabilitat interindividual en les respostes biològiques i la incapacitat per correlacionar les mesures d'estrès i el seu impacte en el benestar animal.

### **4.2.1. Evolució del concepte d'estrès**

El concepte d'estrès deriva de l'estudi dels ajustaments fisiològics d'un individu per mantenir l'homeostasi enfront d'un ambient canviant. Cannon (1935) va ser un dels primers que va usar el terme en l'àmbit de la biologia. Va descriure l'anomenada “reacció d'alarma” (o de lluita-fugida) com una resposta del sistema nerviós autònom davant d'una situació de perill, en la qual les glàndules adrenals alliberaven adrenalina (Canon i de la Paz, 1911).

Als anys 30, Selye (1936) va observar que la manipulació de rates de laboratori provocava l'alliberació de glucocorticoids per part de la glàndula adrenal, sota el control de l'adenohipòfisi (eix pituïtari-adrenocortical). Selye va desenvolupar un model anomenat “síndrome general d'adaptació” o G.A.S, que descrivia com una resposta totalment inespecífica de l'individu independent de la naturalesa de l'estímul. Selye va usar el terme “Stress” per referir-se a totes les forces que actuaven sobre un organisme per desestabilitzar-lo enfront les quals l'individu reaccionava amb el G.A.S.

Mason (1971) va evidenciar que la resposta d'estrès, malgrat tenir un component inespecífic, depenia també dels components emocionals o psicològics associats als agents

estressants. Paral·lelament, Weiss (1972) va il·lustrar com la resposta fisiològica de la glàndula adrenal depenia del grau de control i predicció de l'individu, en un estudi amb rates a les quals administrava estímuls elèctrics.

Kagan i Levi (1974) van desenvolupar un model en el què dividien la resposta d'estrès en tres fases: el reconeixement d'una amenaça per l'homeostasi, la pròpia resposta d'estrès i les seves conseqüències biològiques. En aquest model, destaca el paper del sistema nerviós central a l'hora de percebre o no un estímulo extern com a amenaçant, un procés mediat per factors genètics i l'experiència. A més, el model assenyala que la resposta biològica a l'estrès provoca una sèrie de canvis fisiològics i psicològics que poden conduir a un estat prepatològic i, finalment, en funció de les característiques de l'estímul i l'individu, a una malaltia. Moberg (1987) va proposar aquest estat prepatològic per a definir estrès des d'un punt de vista clínic i mesurar el benestar animal.

Els treballs més recents destaquen el paper de l'hormona alliberadora de corticotropina (CRH), secretada pel nucli paraventricular de l'hipotàlam, en la resposta d'estrès (Dunn i Berridge, 1990), com a integradora entre la resposta de comportament i fisiològica.

Actualment, es considera que l'estrès provoca una resposta conjunta de mecanismes de conducta, immunològics i neuroendocrins (bàsicament de l'eix Hipotàlam-Adenohipofisi-Adrenal, HPA, i el sistema Simpàtico-Adrenal, SA; Sapolsky, 1995; Derrel et al., 1997). Tot i que amb certa controvèrsia, molts autors es decanten per definir-lo amb una connotació negativa, com a l'estat d'un individu quan és sotmès a uns estímuls que sobrepassen la seva capacitat fisiològica i de comportament per adaptar-se (Terlouw et al., 1997).

#### ***4.2.2. Efectes del gen de l'halotà en la resposta individual davant de situacions "aversives" o "estressants"***

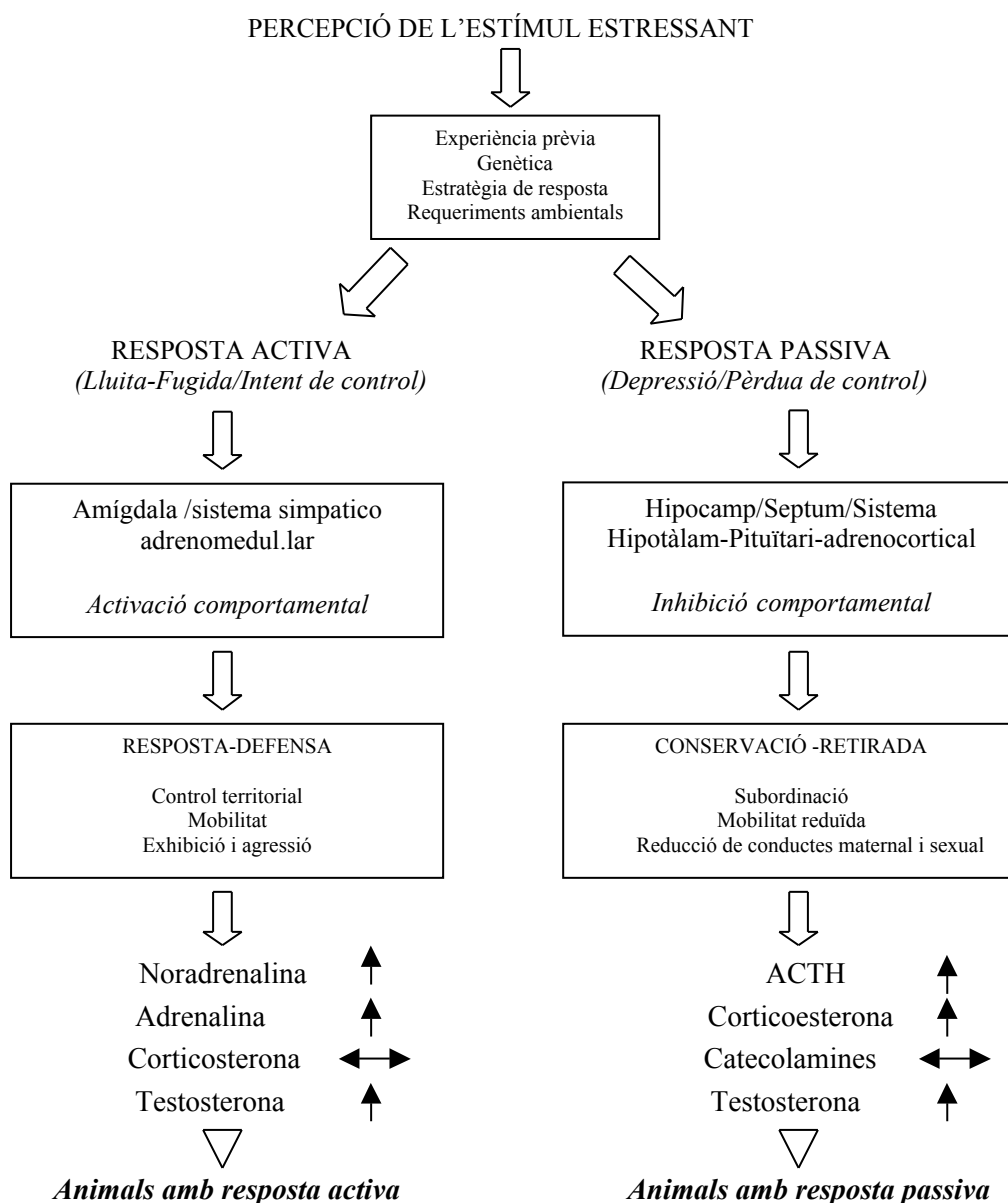
Per tal que un estímulo desencadeni una resposta d'estrès ha de ser percebut com a "aversiu" o amenaçant per part de l'individu. Per tant, la resposta final depèn de característiques de l'estímul i de l'individu (Dantzer i Mormède, 1983; Wiepkema i Koolhas, 1993).

Els estímuls es poden descriure per les seves característiques qualitatives (tèrmic, visual, olfactiv) i quantitatives (intensitat i temporalitat). A partir dels resultats de Weiss (1972), s'ha considerat que els estímuls més "aversius" són aquells no controlables i no

predictibles, perquè aquests conceptes impliquen una integració d'aspectes intrínsecs de l'estímul i de l'individu (Wiepkema i Koolhas, 1993).

Pel que fa a les característiques individuals, poden ser de tipus genètic (espècie, raça, sexe) o ambientals (edat, estat fisiològic, experiència prèvia). Les diferències individuals han estat motiu de creixent interès, perquè alguns autors van descriure que podia existir una certa consistència en la forma com cada individu responia a diferents situacions estressants (Lawrence et al., 1991; Manteca and Deag, 1993). Henry i Stephens (1977) van distingir dues grans categories de resposta comportamental enfront d'un factor estressant, que anaven acompanyades per un perfil fisiològic diferent (Figura 1).

**Figura 1. Estratègies de resposta davant d'una situació aversiva (Henry i Stephens, 1977)**



Més recentment, aquesta hipòtesi d'una distribució bimodal davant de la resposta a l'estrès s'ha descrit en ratolins, dels quals uns manifestaven una reacció activa (“active copers”) amb més activitat del sistema simpàtico-adrenal i els altres una reacció més passiva (“passive copers”) amb més activació de l'eix hipotàlalam-hipòfisi-adrenal (Bohus et al., 1987). L'existència d'aquesta dicotomia d'estratègies també va ser descrita en porcs per Hessing et al. (1993). Més endavant, aquesta bimodalitat s'ha posat en dubte (Forkman et al., 1995, Jensen et al., 1995), tot i que s'accepta que la variabilitat individual en la resposta de l'estrès estigui associada a diferències de “temperament” (Manteca i Deag, 1993; Thodberg et al., 1999) o “personalitat” (Erhard et al., 1999) dels individus.

Les investigacions per descobrir si existien aquestes “estratègies de comportament” en porcs (prové de la idea de *coping strategies* davant de l'estrès), han proliferat amb la intenció de servir com a eina de selecció d'animals més adaptats als ambients productius (Thodberg et al., 1999; Hutson et al., 2000). La majoria d'aquests tests s'han fet amb la metodologia coneguda com a *Open Field*. Aquest test consisteix a introduir l'animal en un ambient totalment nou i mesurar diversos paràmetres com la conducta exploratòria, les vocalitzacions, defecacions, moviment de l'animal. El test es pot complicar creant un conflicte de motivació (per exemple mesurant la latència a menjar si els animals han estat restringits prèviament) o introduint objectes nous (Lawrence et al., 1991; Forkman et al., Jensen et al., 1995; Hutson et al., 2000). Aquest test va ser desenvolupat inicialment per animals de laboratori (Hall, 1936; Whimbey i Denenberg, 1967), però més endavant fou utilitzat per mesurar respostes de por en animals domèstics (per exemple en porcs, von Borell i Ladewig, 1992; Beattie et al., 1995). En l'*Open Field* test, el conflicte entre la motivació per explorar i l'aversion cap a una situació nova és el que determina el comportament de l'animal (Asano, 1986). La interpretació clàssica d'un test d'*Open Field* en rosegadors ha estat que un nombre de defecacions elevat i una baixa activitat indiquen un nivell elevat de por o emocionalitat (Broadhurst, 1957). Malgrat això, altres resultats en rosegadors van suggerir que les mesures de defecació i de locomoció podrien associar-se a dos components independents, que representarien l'emocionalitat i l'activitat (Whimbey i Denenberg, 1967). En estudis fets en porcs, alguns autors han argumentat que les defecacions no representarien una resposta general de por de la mateixa manera que ho fan en rosegadors (Andersen et al., 2000).

Una altra metodologia utilitzada fou l'anomenat *Backtest*, que consisteix a col·locar el garrí d'esquenes subjectant-lo suaument pel cap i mesurar les vocalitzacions i intents

d'escapar (es basa en el què es coneix com a immobilitat tònica, força utilitzada en pollastres, per la qual un animal que es manté recolzat sobre la seva esquena resta immòbil durant un cert temps; Hessing et al., 1993; Erhard et al., 1999).

De totes maneres, en cap de les investigacions citades anteriorment s'ha considerat que el gen de l'halotà pogués influir en la resposta dels individus. Els porcs utilitzats no havien estat genotipats, tot i que, com s'ha esmentat, molta de la bibliografia sobre l'efecte del gen de l'halotà es basa en la premissa que els individus portadors són més susceptibles a l'estrès. Existeixen igualment poques referències sobre patrons comportamentals davant d'altres situacions "estressants", com és el cas del transport, on també s'accepta amplament que existeix un clar efecte del gen. Geers et al. (1994) van observar animals dels tres tipus genètics mitjançant un circuit de càmeres de vídeo. En la secció de resultats, però, només esmenten que els porcs van jeure de cantó durant el 90% del temps, sense establir comparacions entre els diferents genotips.

#### **4.2.3. Mesures fisiològiques de l'estrès en relació al gen de l'halotà**

Tal i com s'ha esmentat, la major part dels estudis sobre la relació del gen de l'halotà amb l'estrès s'han basat en els canvis de paràmetres fisiològics que desencadena la resposta d'estrès. Es poden resumir en els següents punts.

- 1. Activació de l'eix Simpàtico-Adrenal (SA).** Com que la secreció i catabolisme de les catecolamines és molt ràpid, s'usen com a indicadors d'aquest eix els efectes d'aquestes hormones com l'augment de la freqüència cardíaca o de la temperatura corporal (també mediada per l'activació de l'eix HPA). En aquest sentit, s'ha suggerit que els animals portadors del gen mostraven una resposta simpatico-noradrenèrgica superior que els lliures del gen davant de l'estrès agut associat al maneig (Gregory i Wotton, 1981; DeRoth et al., 1989). Villé et al. (1993) també van observar diferències en alguns paràmetres electrocardiogràfics de garrins nn i Nn respecte els NN i Geers et al., (1994) van trobar freqüències cardíques significativament més altes en els animals homozigots recessius pel gen després del transport. En canvi, en aquest estudi de Geers et al., (1994) no es va veure que els individus portadors del gen manifestessin una hipertèrmia induïda per l'estrès superior als lliures, com caldria esperar. Altres investigacions, no obstant, sí que

han detectat temperatures rectals més elevades en garrins nn exposats a halotà (Berman et al., 1970; McGloughlin et al., 1980; Sather et al., 1990), així com una elevació en la temperatura muscular (Sather et al., 1990), però no en la cutània (Berman et al., 1970). D'Allaire i DeRoth (1986) van trobar una diferència en la temperatura cutània dels dos genotips homozigots després d'un test d'exercici, però dependent de la temperatura ambiental, i Geers et al. (1992) van descriure diferències en els patrons, valors i dinàmica de la temperatura subcutània entre els tres genotips, tant en repòs com després de l'exercici.

2. **Activació de l'eix Hipotàlam-Pituitari-Adrenocortical (HPA).** L'elevació de la concentració de glucocorticoids circulants (cortisol en porcs) s'ha emprat per valorar la resposta aguda a l'estrès. Malgrat la seva estesa utilització, la interpretació dels resultats presenta diversos inconvenients (Rushen, 1991; Mendl, 1991): la seva concentració plasmàtica segueix un ritme circadià; la manipulació dels animals per obtenir la mostra provoca en si mateixa un augment de la concentració de glucocorticoids; en situacions d'estrès crònic no se sol produir aquest augment; existeixen diferències interindividuais i algunes situacions no estressants també poden provocar un increment. Aquests problemes metodològics poden explicar parcialment que en alguns estudis no s'hagin detectat diferències significatives en els nivells de cortisol d'individus portadors i no portadors del gen (Gispert et al., 2000) o que en determinades circumstàncies fossin superiors en els individus lliures del gen (Geers et al., 1994). Per això també es valoren altres hormones alliberades per l'eix HPA com l'ACTH que allibera l'adenohipòfisi o la -endorfina, responsable de l'anomenada analgèsia induïda per estrès i que deriva com l'ACTH de la proopiomelanocortina. Geers et al. (1994) van trobar que la -endorfina augmentava durant el transport i els nivells eren superiors en els individus portadors del gen.
3. **Altres indicadors fisiològics.** En la comparació d'individus portadors i lliures del gen de l'halotà, s'han utilitzats altres paràmetres indicadors d'estrès com l'activitat sèrica d'enzims com la creatina quinasa (CK) o la lactat deshidrogenasa, les concentracions sanguínies de lactat o la concentració en el múscul de glicogen, creatina o ATP. En general, s'han observat diferències significatives en alguns



d'aquests indicadors entre els tres genotips. Per exemple, les concentracions sèriques de CK, indicadores de dany muscular, s'han trobat superiors en individus nn (Rundgren et al., 1990; Klont et al., 1993; Gispert et al., 2000). Igualment, també s'han observat en aquests animals concentracions de lactat més elevades tant en sang (Gispert et al., 2000) com en múscul (Klont et al., 1993).

#### **4.3. Efectes del gen de l'halotà en el comportament social**

La literatura científica disposa de pocs estudis per determinar l'efecte del gen en la conducta social dels animals en les diferents fases de la producció i les conclusions són també contradictòries. De fet, Schaefer et al., (1989) van subratllar que les diferències entre els tres genotips podien variar en funció de la tècnica utilitzada per estudiar el comportament. És per aquest motiu que es fa una breu descripció de les diferents metodologies d'estudi del comportament que fins ara s'han emprat per analitzar l'efecte del gen de l'halotà, donant com a exemple els experiments que les han usat.

##### **4.3.1. *Scan sampling instantani***

Aquesta tècnica d'observació es basa en anotar el comportament de cadascun dels individus del grup a intervals regulars de temps (Martin i Bateson, 1993). La mesura que s'obté és la proporció de totes les observacions per sessió que cada individu ha destinat a cadascun dels comportaments. L'elecció de l'interval de temps és crítica per tal que les dades representin una bona estimació de les freqüències de realització de cadascuna de les conductes.

Utilitzant aquesta metodologia, Schaefer et al. (1989) van trobar algunes diferències en alguns comportaments entre els diferents genotips, com una major freqüència de conducta exploratòria entre els individus portadors del gen. Aquests resultats coincideixen amb els de Robert i Dallaire (1986). En canvi, aquests autors no van coincidir amb les seves troballes en relació a la freqüència de repòs: Robert i Dallaire (1986) van trobar-la superior pels animals lliures del gen i Schaefer et al. (1989) pels portadors del gen. Pel què fa a les agressions entre animals, els tres genotips van mostrar diferències però les freqüències eren superiors o inferiors depenent de l'acte agressiu estudiat (Schaefer et al., 1989).

### **4.3.2. Mesures a temps continu**

Consisteix en anotar tots els comportaments que s'observen juntament amb el temps en què ocorren. Produeix una mesura real sobre les freqüències, durades i seqüències de comportament, però sovint a la pràctica implica que es poden controlar menys categories de comportament. En l'actualitat, moltes d'aquestes observacions es fan mitjançant gravacions amb video.

Tenint en compte aquesta metodologia, Schaefer et al. (1989) van observar que tot i que la freqüència de conducta exploratòria fou superior entre els animals portadors del gen, el temps dedicat a aquesta conducta era inferior. Així mateix, també van concloure que els individus lliures del gen destinaven més temps a beure.

### **4.4. Efectes del gen de l'halotà en la conducta alimentària**

Tal i com ocorre en el cas dels estudis de comportament social, existeixen relativament poques investigacions que avaluin l'efecte del gen en la conducta alimentària. Abans de l'aparició dels anomenats Sistemes Automàtics de Control de l'Alimentació (SACA), en els quals els animals es poden mantenir en grups, l'estudi del comportament alimentari es basava en animals allotjats en individual per mesurar fonamentalment el consum voluntari. De Haer i Merks (1992) van demostrar que el patró de conducta alimentària de porcs en individual i en grup diferia i això explicaria en bona part la discrepància de resultats productius dels animals avaluats en centres de testatge amb els animals mantinguts en condicions comercials. D'aquesta manera, el desenvolupament del SACA va permetre dur a terme estudis sobre conducta alimentària molt més acurats, en tant que tenen en compte l'efecte social del grup i que permeten mesurar altres paràmetres alimentaris a banda de la quantitat de consum voluntari (per exemple la freqüència de menjades i la seva durada).

De nou, els estudis de conducta alimentària que han proliferat utilitzant la tecnologia del SACA han avaluat l'efecte de factors com el sexe, la raça o les condicions ambientals, però pocs experiments han considerat la possibilitat que el gen de l'halotà pogués influir els patrons alimentaris. D'aquesta manera, tot un seguit d'estudis han posat de manifest que existeixen diferències en la conducta alimentària d'individus de races pures com Large White i Landrace (Labroue et al., 1994); Pietrain, Large White i Meishan (Quiniou et al., 1999) o mascles sencers Pietrain i Large White (Labroue et al., 1999). Més recentment,

Augspurger et al. (2002) han descrit diferències també entre races pures i una línia sintètica que inclou Large White, Pietrain, Duroc i Landrace. Fent ús també de la tecnologia dels SACA, Labroue et al. (1994) van postular que els porcs podrien adoptar diferents estratègies alimentàries, des del que s'anomenarien “goluts” (*meal eaters*), que menjarien poques vegades però grans quantitats, fins a “mossegadors” (*nibblers*), amb moltes menjades però poc abundants. Fernández (2001) també va suggerir que algunes races porcines es podrien caracteritzar a partir del seu patró alimentari a més dels paràmetres productius, basant-se en la terminologia proposada per Labroue et al. (1994) més un qualificatiu de la velocitat de les menjades (lents/ràpids). Aquest mateix autor figura entre les poques referències que avaluen l'efecte del gen de l'halotà sobre la conducta alimentària. Fernández (2001) va trobar que els porcs nn presentaven una menor velocitat i un major temps d'ingesta diari, comparat amb els NN i Nn, fet que va atribuir a un temperament possiblement més nerviós dels individus nn. Malgrat això, tant el treball d'aquest autor com el de Tor et al. (2001) coincideixen en el fet que els porcs NN i Nn no es van diferenciar en la majoria dels seus paràmetres alimentaris.

Els programes de selecció porcina a favor dels índexs de conversió i del percentatge de magre duts a terme en les darreres dècades, s'han traduït en una disminució del consum voluntari dels porcs (Kanis, 1988; Webb, 1989). Aquest fenomen podria ser degut al fet que la selecció tradicional hagi disminuït la capacitat intestinal dels animals (Tybirk, 1989). Quan aquesta tendència es va constatar, es va començar a adreçar més atenció a l'estudi exhaustiu del comportament alimentari. En aquest sentit, cal destacar que el gen de l'halotà ha estat una de les estratègies de selecció en favor del contingut de magre de les canals porcines. Per tant, podria resultar interessant analitzar si el gen influeix en el consum voluntari, així com en la resta de paràmetres alimentaris.

#### **4.5. El gen de l'halotà i el benestar animal**

Ja s'ha esmentat que no existeix un acord generalitzat per definir quins requeriments calen per parlar de benestar animal. A més, s'argumenta que qualsevol concepció sobre el benestar animal involucra inherentment valors, perquè pertany a la discussió sobre què és “millor” o “pitjor” pels animals (Fraser et al., 1997). També s'ha assenyalat que existeix certa dificultat per convertir aquest concepte en indicadors de benestar empírics. Malgrat això, a partir de la base de les “Cinc Condicions”, el benestar dels animals de granja es pot

mesurar mitjançant la combinació de paràmetres quantificables com els índexs de patologia i productivitat, els canvis fisiològics i de comportament.

Els efectes del gen de l'halotà en relació a les "Cinc Condicions" encara no estan completament investigats. És obvi que les taxes de mortalitat superiors dels individus homozigots recessius o dels heterozigots en relació als homozigots dominants durant el transport o espera són un clar indicador d'un problema de benestar. La seva vinculació amb una major susceptibilitat a l'estrès també presentaria clares implicacions pel benestar. En aquest sentit, però, l'efecte del gen sobre els canvis de conducta de la resposta enfront de l'estrès encara sembla poc estudiat. Caldria establir si la reactivitat que mostren els porcs enfront de situacions aversives s'explica únicament mitjançant l'alteració del seu metabolisme muscular, o si també presenten una major resposta d'estrès. Així mateix existeixen pocs resultats comparant el comportament en condicions "normals" dels animals de diferents genotips, com per exemple diferències en l'activitat o en la conducta de repòs que mantenen una estret vincle amb el benestar (Baxter, 1992).

D'altra banda, tot i que existeix bibliografia comparant índexs productius dels diferents genotips, no proliferen els estudis sobre si el gen té algun efecte en la prevalença de certes condicions patològiques.

En resum, el benestar animal és probablement una de les àrees on l'efecte del gen de l'halotà s'ha inferit més freqüentment a partir d'altres paràmetres, sense dur a terme estudis exhaustius que integressin els diferents indicadors recomanats per la seva avaluació completa.

## **5. ALTERNATIVES COMERCIALS AL GEN DE L'HALOTÀ.**

Tal i com s'ha suggerit, existeix en l'actualitat en determinats països un canvi d'actitud del consumidor de carn, que sembla estar preparat a pagar més si es garanteix una certa qualitat de vida dels animals i del producte final que se n'obté. En el cas del gen de l'halotà, s'ha suggerit que els avantatges en qualitat de la canal que van promoure la seva selecció, no compensen els problemes que comporta a nivell de qualitat de carn (PSE), ni els efectes negatius sobre el benestar animal. Per aquest motiu, sembla que les estratègies futures dels productors de porcí s'hauran de fer ressò de les demandes dels consumidors i plantejar-se la substitució del gen per altres alternatives (Webb, 1998).

Una de les possibilitats que s'han començat a avaluar és la utilització de línies paternes lliures del gen. En aquest sentit, estudis recents han suggerit que un gen associat amb el locus *IGF2* i que s'expressa exclusivament a través de la línia paterna podria explicar una bona proporció de les variacions en contingut en magre i muscularitat, sense presentar efectes negatius sobre la qualitat de carn (Nezer et al., 1999). Sembla que aquest gen estaria fixat en races ben conformades com la Pietrain. Aquesta raça ha estat tradicionalment coneguda no sols per les seves característiques morfològiques (té al voltant d'un 6 a un 8% més de contingut muscular que les races Large White i Landrace), sinó també per les seves peculiaritats a nivell productiu. Es tracta de porcs de creixement lent (fins a tres setmanes més per assolir els 100 kg), però amb un índex de conversió comparable a altres races. Alhora, també s'han descrit diferències en els seus patrons alimentaris, com un menor consum voluntari (Webb, 1989; Labroue et al., 1999) o una estratègia alimentària més propera als “mossegadors” que no als “goluts” comparat amb altres races com la Large White (Labroue et al., 1999). La raça Pietrain també estava inclosa fins ara entre les que presentaven una alta inclusió de gen de l'halotà. Però si es confirmés que les línies de Pietrain lliures del gen poden aportar els avantatges de la raça a nivell de quantitat de magre i rendiment de peces nobles, sense efectes pejoratius sobre la qualitat de carn, podria representar una alternativa comercial al gen. Existeixen altres possibilitats que el sector està avaluant com l'ús de races amb baixa freqüència de gen de l'halotà com la Duroc o la Large White. En aquest sentit, l'elecció de la línia finalitzadora determina el creixement i les característiques de la canal, però encara existeixen relativament pocs estudis que avaluïn el seu efecte en la qualitat de la carn i el seu processament (Miller et al., 2000).

En general, si les demandes i preferències dels consumidors evolucionen en el nostre país com ho han fet en altres països europeus, és previsible que el nombre d'estudis per trobar alternatives econòmicament viables per eliminar el gen de l'halotà vagin en augment. El resultat, en aquest cas, haurien de ser tot un seguit de possibilitats en les quals es tinguessin en compte no sols paràmetres productius, de qualitat i econòmics, sinó també de benestar animal.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Andresen, E.** 1987. Selection against-PSS by means of blood typing. In: *Evaluation and control of meat quality in pigs* (Editors: P.V. Tarrant, G. Eikelenboom and G. Monin). Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, pp. 317-328.
- Andersen, I.L., Bøe, K.E., Foeverik, G., Janczak, A.M. and Bakken, M.** 2000. Behavioural evaluation of methods for assessing fear responses in weaned pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **69**: 227-240.
- Appleby, M.C., Hughes, B.O. and Elson, H.A.** 1992. Poultry production systems: behaviour, management and welfare. CAB International, Wallingford, U.K., pp. 87-101.
- Asano, Y.** 1986. Characteristics of open field behaviour of Wistar and Sprague-Dawley rats. *Exp. Anim.*, **35**: 505-508.
- Augspurger, N.R., Ellis, M., Hamilton, D.N., Wolter, B.F., Beverly, J.L. and Wilson, E.R.** 2002. The effect of sire line on the feeding patterns of grow-finish pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **75**: 103-114.
- Baxter, M.R.** 1992. The space requirements of housed livestock. In: *Farm animals and Environment* (Editors: C. Phillips and D. Piggins). CAB International, Wallingford, U.K., pp. 67-81.
- Beattie, V.E., Walker, N., Sneddon, I.A.** 1995. Effect of rearing environment and change of environment on the behaviour of gilts. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **46**: 57-65.
- Bendall, J.R.** 1966. The effect of pre-treatment of pigs with curare on the post-mortem rate of pH fall and onset of rigor mortis in the musculature. *J. Sci. Food Agric.*, **17**: 333-338.
- Berman, M.C., Harrison, G.G., Bull, A.B. and Krench, J.E.** 1970. Changes underlying halothane-induced malignant hyperpyrexia in landrace pigs. *Nature*, **225**:653-655.
- Blasco, A. and Webb, A.J.** 1989. Genetic variation in reaction time to halothane exposure. *Anim. Prod.*, **49**: 117-121.
- Bohus, B., Benus, R.F., Fokkema, D.S., Koohaas, J.M., Nyakas, C., Van Oortmerssen, G.A., Prim, A.J.A., De Ruiter, A.J.H, Scheurink, A.J.W. and Stephens, A.B.** 1987. Neuroendocrine states and behavioural and physiological stress responses. In: *Progress in Brain Research* (Editors: E.R. de Kloet, V.M. Wiegant and D. de Wield), **72**: 55-70.
- Brambell Committee**, 1965. Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems. Her Majesty's Stationery Office, London, U.K.

- Briskey, E.J.** 1964. Etiological status and associated studies of pale, soft, exudative porcine musculature. *Adv. Food Res.*, **13**: 89-178.
- Briskey, E.J. and Wismer-Pedersen, J.** 1961. Biochemistry of pork muscle structure. I. Rate of anaerobic glycolysis and temperature change versus the apparent structure of muscle tissue. *J. Food Sci.*, **26**: 297-305.
- Broadhurst, P.L.** 1957. Determinants of emotionality in the rat: I. Situational factors. *Br. J. Psychol., Med. Sect.*, **48**: 77-78.
- Broom, D.M.** 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **20**: 5-19.
- Broom, D.M.** 1991. Assessing welfare and suffering. *Behav. Proc.*, **25**: 117-123.
- Broom, D.M. and Johnson, K.G.** 1993. Assessing welfare: short term responses. In: *Stress and Animal Welfare*. (Editors: D.M. Broom and K.G. Johnson). Chapman and Hall, London, U.K., pp. 87-144.
- Cannon, W.B. and de la Paz, D.** 1911. Emotional stimulation of adrenal secretion. *Am. J. Phys.*, **28**: 64-70.
- Cannon, W. B.** 1935. Stresses and strains of homeostasis. *Am. J. Med. Sci.*, **189**: 1-14.
- Cassens, R.G., Marple, D.N. and Eikelenboom, G.** 1975. Animal physiology and meat quality. *Adv. Food Res.*, **21**: 71-155.
- Chowdhary, B.P., Harbitz, I., Mäkinen, A., Davies, W. and Gustavsson, I.** 1989. Localization of the glucose-phosphate isomerase gene to the p12-q21 segment of chromosome 6 in pig by in situ hybridization. *Hereditas*, **111**: 73-78.
- Chowdhary, B.P., Harbitz, I., Davies, W. and Gustavsson, I.** 1991. Mapping of genes belonging to the halothane linkage group in pigs using in situ hybridization. *Genet. Sel. Evol.*, **23** Suppl. 1: 96s-99s.
- Christensen, L., Barton-Gade, P. and Blaaiberg, L.O.** 1994. Investigation of transport conditions in participating countries in the EC project: PL920262. In: *Proceedings of the 40<sup>TH</sup> ICOMST*, The Hague, Netherlands.
- Christian, L.L.** 1972. A review of the role of genetics in animal stress susceptibility and meat quality. In: *Proceedings of Pork Quality Symposium*, (Editors: R.G.C. Cassens, F. Giesler and Q. Kolb), Universitat de Wisconsin., U.S., pp. 91-115.
- D'Allaire S. and DeRoth, L.** 1986. Physiological responses to treadmill exercise and ambient temperature in normal and malignant hyperthermia susceptible pigs. *Can. J. Vet. Res.*, **50**: 78-83.

- Dantzer, R. and Mormède, P.** 1983. Stress in farm animals: a need for reevaluation, *J. Anim. Sci.*, **57**: 6-18.
- Dawkins, M.S.** 1980. *Animal Suffering: The science of Animal Welfare*. Chapman and Hall, London, U.K.
- Dawkins, M.S.** 1990. From an animal's point of view: motivation, fitness and animal welfare. *Behav. Brain Sci.*, **13**: 1-9.
- DeRoth, L., Vermette, L., Blouin, A. and Laiviere, N.** 1989. Blood catecholamines in response to handling in normal and stress susceptible swine. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **22**: 255-260.
- Derrel, J., Rager, D.R. and Calpin, J.P.** 1997. Animal Well-Being, Special Topic Overview. *Lab. Anim. Sci.*, **47**: 564-597.
- de Haer, I. C.M. and Merks, J.W.M.** 1992. Patterns of daily food intake in growing pigs. *Anim. Sci.*, **54**: 95-104
- de Smet, S., Pauwels, H., Vervaeke, I., de Bie, S., Eeckhout, W. and Casteels, M.** 1995. Meat and carcass quality of heavy muscled Belgian slaughter pigs as influenced by halothane sensitivity and breed. *Anim. Sci.*, **61**: 109-114.
- de Smet, S.M., Pauwels, H., de Bie, S., Demeyer, D.I., Callewier, J. I. and Eeckhout, W.** 1996. Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of Belgian slaughter pigs. *J. Anim. Sci.*, **74**: 1854-1863.
- de Smet, S., Bloemen, H., van de Voorde, G., Spincemaille, G. I. and Berckmans, D.** 1998. Meat and carcass quality in two pig lines of different stress-susceptibility genotype and their crosses. *Anim. Sci.*, **66**: 441-447.
- de Vries, A.G., Sosnicki, A., Garnier, J.P. and Plastow, G.S.** 1998. The role of major genes and DNA technology in selection for meat quality pigs. *Meat Sci.*, **49 (1001)**: S245-S255.
- de Vries, A.G., Faucitano, L., Sosnicki, A. and Plastow, G.S.** 2000. The use of gene technology for optimal development of pork meat quality. *Food Chem.*, **69**: 397-405.
- Diari Oficial de les Comunitats Europees.** Directiva 91/630/CEE del Consell de 19 de Novembre de 1991 establint els mínims estàndards per la protecció dels porcs. Brussel·les, U.E.
- Diari Oficial de les Comunitats Europees.** Directiva 95/29/CE del Consell de 29 de juny de 1995, per la qual es modifica la Directiva 91/628/CEE sobre la protecció d'animals durant el transport. Brusel·les, U.E.



- Diari Oficial de les Comunitats Europees.** Directiva 2001/88/CE del Consell de 23 d'octubre de 2001 per la qual es modifica la Directiva 91/630/CEE relativa a les normes mínimes para la protecció de porcs. Brussel·les, U.E.
- Duncan, I.J.H. and Dawkins, M.S.** 1983. The problem of assessing 'well-being' and 'suffering' in farm animals. In: *Indicators relevant to Farm Animal Welfare*. (Editor: Smidt). Martinus Nijhoff Publishers, pp. 13-24.
- Duncan, I.J.H.** 1995. An applied ethologist looks at the question 'why'? *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **44**: 205-217.
- Dunn, A.J. and Berridge, C.W.** 1990. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses? *Brain Res. Rev.*, **15**: 71-100.
- Eikelenboom, G. and Minkema, D.** 1974. Prediction of pale, soft, exudative muscle with a non-lethal test for the halothane-induced porcine malignant hyperthermia syndrome. *Tijdschr. Diergeneesk.*, **99**: 421-426.
- Fernández, J.** 2001. Descripción del comportamiento alimentario en cuatro razas porcinas y estudio de su relación con la productividad, el gen del halotano y la jerarquía social. Tesis Doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.
- Erhard, H.W., Mendl, M. and Christiansen, S.B.** 1999. Individual differences in tonic immobility may reflect behavioural strategies. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **64**: 31-46.
- Fisher, P., Mellett, F.D. and Hoffman, L.C.** 2000. Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. *Meat Sci.*, **54**: 97-105.
- Forkman, B., Furuhaug, I.L. and Jensen, P.** 1995. Personality, coping patterns, and aggression in piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **45**: 31-42.
- Fraser, D., Weary, D.M., Pajor, E.A. and Milligan, B.N.** 1997. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. *Anim. Welf.*, **6**: 187-205.
- Fuji, J., Otsu, K., Zorzato, F., De Leon, S., Khanna, V.K., Weiler, J. E., O'Brien, P.J. and MacLennan, D.H.** 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, **253**: 448-451.
- García-Macías, J. A., Gispert, M., Oliver, M.A., Diestre, A., Alonso, P., Muñoz-Luna, A., Siggers, K. and Cuthbert-Heavens, D.** 1996. The effects of cross, slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat quality in pig carcasses. *Anim. Sci.*, **63**: 487-496.

- Geers, R., Villé, H., Janssens, S., Goedseels, V., Goossens, K., Parduyns, G., Van Bael, J., Bosschaerts, L. and Heylen, L.** 1992. Changes in body temperatures of piglets as related to halothane sensitivity and treadmill exercise. *J. Ther. Biol.*, **17**:125-128.
- Geers, R., Bleus, E., Van Shcie, T., Villé, H., Gerard, H., Janssens, S., Nackaerts, G., Decuyper, E. and Jourquin, J.** 1994. Transport of pigs different with respect to the halothane gene: stress assessment. *J. Anim. Sci.*, **72**: 2552-2558.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggens, K., Harvey, K. and Diestre, A.** 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.*, **55**: 97-106.
- Gonyou, H.W.** 1993. Animal welfare: definitions and assessment. *J. Agric. Envir. Ethics*, **6** (supplement 2): 37-43.
- Gregory, N.G.** 1998. Animal Welfare and Meat Science. CAB International, Wallingford, pp.165-183.
- Gregory, N.G. and Wotton, S.B.** 1981. Autonomic and non-autonomic control of cardiovascular function in stress-sensitive pigs. *J. Vet. Pharm. Ther.*, **4**: 183-191.
- Griffin, D.R.** 1992. Animal minds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Gronert, G.A.** 1980. Malignant hyperthermia. *Anaesth.*, **53**: 395-423.
- Guéblez, R., Paboueu, F., Sellier, P., Bouffaud, J., Irault, D., Le Tiran, M.H. and Petit, G.** 1995. Effect du genotype halothane sur les performances d'engraissement, de carcasse et de qualité de la viande du porc charcutier. *Journ. Rech. Porc. en France*, **27**: 155-164.
- Hall, C.S.** 1936. Emotional behaviour in the rat: III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J. Comp. Psychol.*, **22**: 345-352.
- Hall, L.W., Woolf, N., Bradley, J.W.P. and Jolly, D.W.** 1966. Unusual reaction to suxametonium chloride. *Br. Med. J.*, **2**: 1305.
- Hamilton, D.N., Ellis, M., Miller, K.D., McKeith, F.K. and Parrett, D.F.** 2000. The effect of halothane and Rendement Napole genes on carcass and meat quality characteristics of pigs. *J. Anim. Sci.*, **78**: 2862-2867
- Harbitz, I., Chowdhary, B.P., Thomsen, P.D., Davies, W., Kaufmann, U., Kran, S., Gustavsson, I., Christensen, K. and Hauge, J.G.** 1990. Assignment of the porcine calcium release channel gene, a candidate for the malignant hyperthermia locus, to the 6p11-q21 segment of chromosome 6. *Genomics*, **8**: 243-248.

- Harrison, R.** 1964. *Animal Machines*. Ed. Vincent Stuart. London, U.K.
- Henry, J.P. and Stephens, P.M.** 1977. *Stress, health and the social environment: a sociobiologic approach to medicine*. Springer Verlag, New York, U.S.
- Hessing, M.J.C., Hagelsö, A.M., van Beek, J.A.M., Wiepkema, P.R., Schouten, W.P.G. and Krukow, R.** 1993. Individual behavioural characteristics in pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **37**: 285-295.
- Hughes, B.O. and Duncan, I.J.H.** 1988. The notion of ethological 'need, models of motivation and animal welfare. *Anim. Behav.*, **36**: 1696-1707.
- Hutson, G.D., Ambrose, T.J., Barnett, J.L. and Tilbrook, A.J.** 2000. Development of a behavioural test of sensory responsiveness in the growing pig. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **66**: 187-202.
- Jensen, P. and Barton-Gade, P.A.** 1985. Performance and carcass characteristics of pigs with known genotypes for halothane susceptibility. In: *Stress susceptibility and meat quality in pigs*. (Editor: J.B. Ludvigsen). European Association for Animal Production. Publication n°33: 81-87.
- Jensen, P., Rushen, J. and Forkman, B.** 1995. Behavioural strategies or just individual variation in behaviour? A lack of evidence for active and passive piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **43**: 135-139.
- Jeremiah, L.E., Gibson, J.P., Gibson, L.L., Ball, R.O., Aker, C. and Fortin, A.** 1999. The influence of breed, gender, and PSS (halothane) genotype on meat quality, cooking loss and palatability of pork. *Food Res. Int.*, **32**: 59-71.
- Jorgensen, P.F.** 1979. Polymorphic systems in blood: associations with porcine halothane sensitivity and meat quality. *Acta Agric. Scand. Suppl.*, **21**: 386-395.
- Judge, M.D.** 1972. A review of possible methods to detect stress susceptibility and potential low quality pork. In: *Proceedings of Pork Quality Symposium*, (Editors: R.G.C. Cassens, F. Giesler and Q. Kolb), University of Wisconsin, U.S., pp. 91-115
- Kagan, A.R. and Levi, L.** 1974. Health and environment- psychosocial stimuli: a review. *Soc. Sci. Med.*, **8**: 225-241.
- Kanis, E.** 1988. Food intake capacity in relation to breeding and feeding of growing pigs. Thesis, University of Wageningen, The Netherlands.
- Klont, R.E., Lambooy, E. and Logtestijn, J.G.** 1993. Effect of preslaughter anaesthesia on muscle metabolism and meat quality of pigs of different halothane genotypes. *J. Anim. Sci.*, **71**: 1477-1485.

- Knudson, C., Mickelson, J.R., Louis, C.F. and Campbell, P.** 1990. Distinct immunopeptide maps of the sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  release channel in malignant hyperthermia. *J. Biol. Chem.*, **265**, 5: 2421-2424.
- Küchenmeister, U., Kuhn, U., Wegner, J., Nürnberg, G. and Ender, K.** 1999. Postmortem changes in  $\text{Ca}^{2+}$  transporting proteins of sarcoplasmic reticulum in dependence on malignant hyperthermia status in pigs. *Mol. Cell. Biochem.*, **195**: 37-46.
- Labroue, F., Guéblez, R., Sellier, P. and Meunier-Salaün, M.C.** 1994. Feeding behaviour of group-housed Large White and Landrace pigs in French central test stations. *Liv. Prod. Sci.*, **40**: 303-312
- Labroue, F., Guéblez, R., Meunier-Salaün, M.C. and Sellier, P.** 1999. Feed intake behaviour of group-housed Pietrain and Large White growing pigs. *Ann. Zootech.*, **48**: 247-261
- Larzul, C., le Roy, R., Guéblez, R., Talmant, A., Gogué, J., Sellier, P. and Monin, G.** 1997. Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 Kg or 125 Kg live weight. *J. Anim. Breed. Genet.*, **114**: 309-320.
- Lawrence, A.B., Terlouw, E.M.C. and Illius, A.W.** 1991. Analysis of temperament in pigs exposed to non-social and social challenges. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **30**: 73-86.
- Leach, L.M., Ellis, M., Sutton, D., McKeith, F.K. and Wilson, E.R.** 1996. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. *J. Anim. Sci.*, **74**: 934-943.
- Liou, Y.M., Jiang, M.J. and Wu, M.C.** 2000. Altered expression of cardiac myosin isozymes associated with the malignant hyperthermia genotype in swine. *Anaesth.*, **93**: 1312-1319.
- Louis, C.F., Gallant, E.M., Remple, W.E. and Mickelson, J.R.** 1990. Malignant hyperthermia and porcine stress syndrome: a tale of two species. *Pig News and Inf.*, **11**: 341-344.
- Manteca, X. and Deag, J.M.** 1993. Use of physiological measures to assess individual differences in reactivity. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **37**: 265-270.
- Martin, P. and Bateson, P.** 1993. Measures of behaviour. In: *Measuring behaviour, an introductory guide*. (Editors: P. Martin and P. Bateson). Cambridge University Press, 2nd edition, Newcastle, U.K., pp. 62-83.
- Mason, J.W.** 1971. A re-evaluation of the concept of 'non-specificity' in stress theory. *J. Psych. Res.*, **8**: 323-333.

- Mason, G. and Mendl, M.** 1993. Why is there no simple way of measuring animal welfare? *Anim. Welf.*, **2**: 301-319.
- McCarthy, T.V., Healy, J.M.S., Heffron, J.J.A., Lehane, M., Deufel, T., Lehman-Horn, F., Farrall, M. and Johnson, H.** 1990. Localization of the malignant hyperthermia susceptibility locus to human chromosome 19q12-13.2. *Nature*, **343**: 562-564.
- McGloughlin, P., Ahern, C.P., Butler, M. and McGloughlin, J.V.** 1980. Halothane induced malignant hyperthermia in Irish pig breeds. *Liv. Prod. Sci.*, **7**:147-154.
- McKenzie, A.E., Korneluk, R.G., Zorzato, F., Fujii, J., Phillip, M., Iles, D., Wieringa, W., Leblond, S., Bailly, J., Willard, H.F., Duff, C., Worton, R.G. and McLennan, D.H.** 1990. The human ryanodine receptor gene: its mapping to 19q13.1, placement in a chromosome 19 linkage group, and exclusion as the gene causing myotonic dystrophy. *Ann. J. Hum. Genet.*, **46**: 1082-1089.
- McPhee, C.P., Daniels, L.J., Kramer, H.L., Macbeth, G.M. and Noble, J.W.** 1994. The effects of selection for lean growth and halothane allele on growth performance and mortality of pigs in a tropical environment. *Liv. Prod. Sci.*, **38**: 117-123.
- McPhee, C.P. and Trout, G.R.** 1995. The effects of selection for lean growth and the halothane allele on carcass and meat quality of pigs transported long and short distances. *Liv. Prod. Sci.*, **42**: 55-62.
- Mendl, M.** 1991. Some problems with the concept of a cut-off point for determining when an animal welfare is at risk. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **31**: 139-146.
- Miller, K.D., Ellis, M., McKeith, F.K. and Wilson, E.R.** 2000. Influence of sire line and halothane genotype on growth performance, carcass characteristics, and meat quality in pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, **80**: 319-327.
- Minkema, D., Eikelenboom, G. and van Eldik, P.** 1977. Inheritance of MHS-susceptibility in pigs. In: *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference on Production Diseases in Farm Animals*, Pudoc, Wageningen, The Netherlands, pp. 203-207.
- Moberg, G.P.** 1987. Problems in defining stress and distress in animals. *J. Anim. Vet. Med. Ass.*, **191**: 1207-1211.
- Monin, G., Sellier, P., Ollivier, L., Goutefongea, R. and Girard, J.P.** 1981. Carcass characteristics and meat quality of halothane-negative and halothane-positive Pietrain pigs. *Meat Sci.*, **5**: 413-423.

- Monin, G., Larzul, C., le Roy, P., Culioli, J., Mourot, J., Rousset-Akrim, S., Talmant, A., Touraille, C. and Sellier, P.** 1999. Effects of the halothane genotype and slaughter weight on texture of pork. *J. Anim. Sci.*, **77**: 408-415.
- Murray, A.C. and Johnson, C.P.** 1998. Impact of the halothane gene on muscle quality and pre-slaughter deaths in Western Canadian pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, **78**: 543-548.
- Nezer, C., Moreau, L., Brouwers, B., Coppeters, W., Detilleux, J., Hanset, R., Karim, L., Kvasz, A., Leroy, P. and Georges, M.** 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the *IGF2* locus in pigs. *Nat. Genet.* **21**: 155-156.
- O'Brien, P.J., Fletcher, T.J., Metz, A.L., Kurtz, H.J., Reed, B.K., Rempel, W.E., Clark, E.G. and Louis, C.F.** 1987. Malignant hypothermia susceptibility: cardiac histomorphometry of dogs and young market-weight swine. *Can. J. Vet. Res.*, **51**: 50-55.
- O'Brien, P.J., Klip, A., Britt, B.A. and Kalow, B.I.** 1990. Malignant hyperthermia susceptibility: biochemical basis for pathogenesis and diagnosis. *Can. J. Vet. Res.*, **54**: 83-92.
- O'Brien, P.J., Ball, R.O. and MacLennan, D.H.** 1994. Effects of heterozygosity for the mutation causing porcine stress syndrome on carcass quality and live performance characteristics. In: *Proceedings of the 13<sup>th</sup> IPVS Congress, Bangkok, Thailand* (Editors: P. Poomvises and I. Ingkanium), pp. 481.
- Oliver, M.A., Gispert, M. and Diestre, A.** 1993. The effect of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Sci.*, **35**: 105-118.
- Ollivier, L., Sellier, P. and Monin, G.** 1975. Déterminisme génétique du syndrome d'hyperthermie maligne chez le porc de Pietrain. *Annu. Génét. Sél. Anim.*, **7**: 159-166.
- Otsu, K., Khanna, V.K., Archibald, A.L. and Mclellan, D.H.** 1991. Cosegregation of porcine malignant hyperthermia and a probable causal mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor gene in backcross families. *Genomics*, **11**: 774-750.
- Pedersen, P.H., Oksbjerg, N., Karlsson, A.H., Busk, H., Bendixen, E. and Henckel, P.** 2002. A within litter comparison of muscle fibre characteristics and growth of halothane carrier and halothane free crossbreed pigs. *Liv. Prod. Sci.*, **73**: 15-24.
- Petherick, J. C. and Rushen, J.** 1997. Behavioural restriction. In: *Animal Welfare* (Editors: M.C. Appleby and B.O. Hughes). CAB International, Walingford, U.K., pp. 89-107.

- Pommier, S.A., Houde, A., Rousseau, F. and Savoie, Y.** 1992. The effect of the malignant hyperthermia genotype as determined by a restriction endonuclease assay on carcass characteristics of commercial crossbred pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, **72**: 973-976.
- Pommier, S.A. and Houde, A.** 1993. Effect of genotype for malignant hyperthermia as determined by a restriction endonuclease assay on the quality characteristics of commercial pork loins. *J. Anim. Sci.*, **71**: 420-425.
- Pommier, S.A., Pomar, C. and Godbout, D.** 1998. Effect of halothane genotype and stress on animal performance, carcass composition and meat quality of crossbred pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, **78**: 257-264.
- Quiniou, N., Dubois, S., le Cozler, Y., Bernier, J.F. and Noblet, J.** 1999. Effect of growth potential (body weight and breed/castration combination) on the feeding behaviour of individually kept growing pigs. *Liv. Prod. Sci.*, **61**: 13-22.
- Rempel, W.E., Ming, Y.L., Michelson, J.R. and Louis, C.F.** 1995. The effect of skeletal muscle ryanodine receptor genotype on pig performance and carcass and quality traits. *Anim. Sci.*, **60**: 249-257.
- Robert, S. and Dallaire, A.** 1986. An exploratory study of behavioural differences between young pigs susceptible and non-susceptible to stress syndrome. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **16**: 335-343.
- Rundgren, M., Lundstrom, K., Edfords-Lilja, I. and Juneja, R.K.** 1990. A within-litter comparison of the three halothane genotypes. 1. Piglet performance and effects of transportation and amperozide treatment at 12 weeks of age. *Liv. Prod. Sci.*, **26**: 137-153.
- Rushen, J.** 1991. Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **28**: 381-386.
- Sandøe, P. and Simonsen, H.B.** 1992. Assessing animal welfare: where does science end and philosophy begin? *Anim. Welf.*, **2**: 257-267.
- Sapolsky, R.M.** 1995. Por qué las cebras no tienen úlceras? La guía del estrés. Ed. Alianza, Madrid, Espanya.
- Sather, A.P., Schaefer, A.L., Tong, A.K.W., Garipey, C. and Zawadski, S.M.** 1990. Muscle and rectal temperature response curves to a short-term halothane challenge in eight-week old piglets with known genotype at the halothane locus. *Can. J. Anim. Sci.*, **70**: 9-14.
- Sather, A.P., Jones, S.D.M. and Tong, A.K.W.** 1991. Halothane genotype by weight interactions on lean yield from pork carcasses. *Can. J. Anim. Sci.*, **72**: 973-976.

- Schaefer, A.L., Sather, A.P., Tong, A.K.W. and Lepage, P.** 1989. Behaviour in pigs from three genotypes segregating at the halothane locus. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **23**: 15-25.
- Seewald, M.J., Eichinger, H.M., Lehmann-Horn, F. and Iaizzo, F.** 1991. Characterization of swine susceptible to malignant hyperthermia by in vivo, in vitro and post-mortem techniques. *Acta Anaest. Scand.*, **35**: 345-349.
- Sellier, P. and Monin, G.** 1994. Genetics of pig meat quality: a review. *J. Muscl. Foods*, **5**: 187-219.
- Selye, H.** 1936. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, **138**: 32.
- Smith, C. and Bampton, P.R.** 1977. Inheritance of reaction to halothane anaesthesia in pigs. *Genet. Res.*, **29**: 287-292.
- Terlouw, E.M.C., Schouten, W.G.P. and Ladewig, J.** 1997. Physiology. In: *Animal Welfare* (Editors: M.C. Appleby and B.O. Hughes). CAB International, Walingford, U.K., pp. 143-158.
- Thodberg, K., Jensen, K.H. and Herskin, M.S.** 1999. A general reaction pattern across situations in prepubertal gilts. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **63**: 103-119.
- Topel, D.G., Christian, L.L. and Preston, K.S.** 1969. Stress in swine. *Iowa Farm Sci.*, **24**: 503-504.
- Topel, D.G., Miller, J.A., Berger, P.J., Rust, R.E., Parrish, Jr. F.C. and Ono, K.** 1976. Palatability and visual acceptance of dark, normal and pale coloured porcine m.Longissimus. *J. Food Sci.*, **41**: 628-630.
- Tor, M., Estany, J., Villalba, D., Cubiló, D., Tibau, J., Soler, J., Sánchez, A. and Noguera, J.L.** 2001. A within-breed comparison of RYR1 pig genotypes for performance, feeding behaviour, and carcass and meat quality traits. *J. Anim. Breed. Gen.*, **118**: 357-428.
- Tybirk, P.** 1989. A model of food intake regulation in the growing pig. In: *The Voluntary Food Intake of Pigs* (Editors: J.M. Forbes, M.A. Varley and T.L.J. Lawrence). *BSAP Occasional Publication*, **13**, p.105.
- van den Hende, C.** 1979. Isometric contraction of skeletal muscles of MH-susceptible and resistant Belgian Landrace pigs. *Acta Agric. Scand. Suppl.*, **21**: 339-342.
- van Laack, R.L.J.M., Kauffman, R.G., Sybesma, W., Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G. and Pinheiro, J.C.** 1994. Is colour brightness (L-value) a reliable indicator of water-holding capacity in porcine muscle?. *Meat Sci.*, **38**: 193-201.



- van Logtestijn, J.G., Romme, A.M.T.C. and Eikelenboom, G.** 1982. Losses caused by transport of slaughter pigs in the Netherlands. In: *Transport of Animals intended for Breeding, Production and Slaughter* (Editor: R. Moss). *Curr. Topics Vet. Med. Anim. Sci.*, **18**, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, pp. 105-114.
- Villé, H., Bertels, S., Geers, R., Janssens, S., Goedseels, V., Parduyns, G., Bael, J., van Goossens, K., Bosschaerts, L., Ley, J. and Heylen, L.** 1993. Electrocardiogram parameters of piglets during housing, handling and transport. *Anim. Prod.*, **56**: 211-216.
- Vögeli, P.** 1989. Position of the PH1 and PO2 loci in the HAL linkage group in pigs. *Genet. Sel. Evol.*, **21**: 119-125.
- von Borell, E. and Ladewig, J.** 1992. Relationship between behaviour and adrenocortical-response pattern in domestic pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **34**: 195-206.
- Warriss, P.D. and Brown, S.N.** 1987. The relationships between initial pH, reflectance and exudation in pig muscle. *Meat Sci.*, **20**: 65-74.
- Warriss, P.D. and Brown, S.N.** 1994. A survey of mortality on slaughter pigs during transport and lairage. *Vet. Rec.*, **14**: 513-515.
- Webb, A.J., Cardin, A.E., Smith, C. and Imlah, P.** 1982. Porcine stress syndrome in pig breeding. In: *Proceedings of the Second World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Madrid, Spain, pp. 588-608.
- Webb, A.J.** 1989. Genetics of food intake in the pig. In: *The Voluntary Food Intake of Pigs* (Editors: J.M. Forbes, M.A. Varley and T.L.J. Lawrence), *BSAP Occasional Publication*, **13**, pp.41-50.
- Webb, A.J.** 1998. Objectives and strategies in pig improvement: an applied perspective. *J. Dairy Sci.*, **81**: 36-46.
- Webster, J.** 1995. *Animal welfare: a cool eye towards Eden*. Blackwell Science, Oxford, U.K.
- Weiss, J.M.** 1972. Psychological factors in stress and disease. *Sci. Am.*, **226**: 104-113.
- Whimbey, A.E. and Denenberg, V.H.** 1967. Two independent behavioural dimensions in open field performance. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **63**: 500-504.
- Whittemore, C.** 1993. *The science and practice of pig production*. Ed. Longman, Essex, U.K.
- Whittemore, C.T.** 1995. Responses to the environmental and welfare imperatives by UK livestock production industries and research services. *J. Agric. Environ. Eth.*, **8**: 65-84.

**Wiepkema, P.R. and Koolhas, J.M.** 1993. Stress and animal welfare. *Anim. Welf.*, **2**: 195-218.

**Wolf-Schwerin, C. and Kallweit, E.** 1991. Belastungsreaktionen und Leistungsmerkmale von definierten Halothangenotypen der Deutschen Landrasse. *Zücht.*, **63**: 51-64.

## OBJECTIUS

Els experiments presentats en aquest treball formen part d'un projecte finançat amb fons FEDER (2FD97-0022-CO3), la responsabilitat científica del qual va ser compartida entre el CTC i el CCP de l'IRTA i el Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la UAB, amb la col·laboració de dues empreses (Pinsos Baucells i PIC). L'objectiu genèric del projecte era avaluar els avantatges “reals” del gen de l'halotà pel sector porcí. Per a respondre aquesta qüestió general, es van definir els següents objectius específics:

- 1. Estudiar en condicions comercials l'efecte del genotip halotà en la conducta social i individual en porcs des de la maternitat fins l'engreix.**
- 2. Estudiar i comparar en condicions comercials l'efecte del genotip halotà i de la línia paterna en diferents paràmetres d'estrès i qualitat de canal i carn en porcs sotmesos a tractaments *ante-mortem* diferents.**
- 3. Estudiar i comparar en condicions controlades l'efecte del genotip halotà i de línies paternes lliures del gen en paràmetres productius, en el comportament alimentari i la qualitat de canal.**
- 4. Avaluar en condicions comercials l'impacte del genotip halotà en la mortalitat durant el transport i espera a l'escorxador.**
- 5. Avaluar la influència que els anteriors efectes podrien exercir sobre el benestar animal.**



## **GENERAL MATERIAL AND METHODS**

### **ABSTRACT**

---

The results presented in this thesis have been organized in 5 chapters according to the type of experiment or effects evaluated. The chapters are based on scientific papers that have been submitted to scientific journals to be considered for publication. At the beginning of each chapter, the authors of the related paper are mentioned.

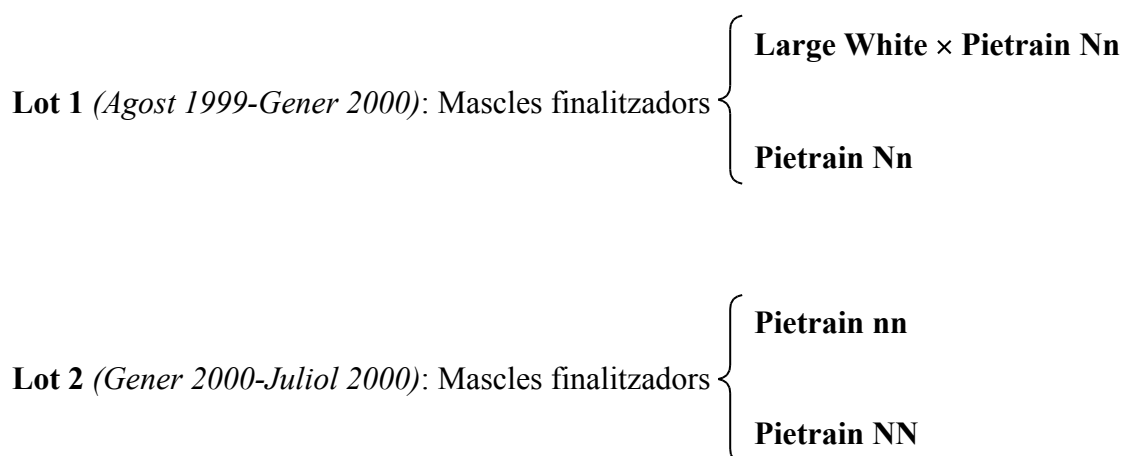
A general consideration is that the experimental set up included two batches of pigs which were observed from the farrowing pens to the abattoir. The main difference between these two batches was the terminal sire line used.

---

## ORGANIGRAMA GENERAL

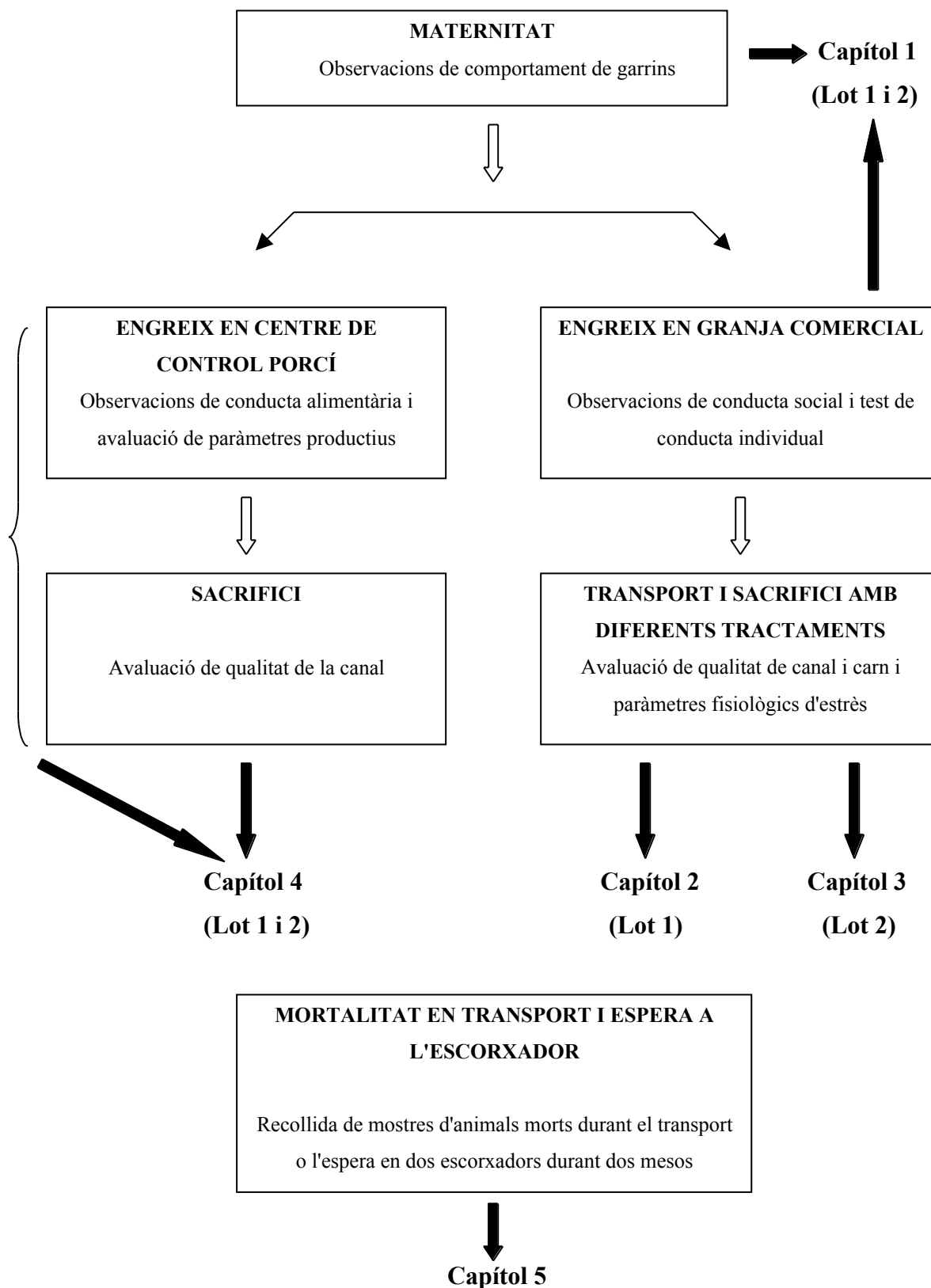
Els resultats que es presenten en aquesta tesi estan agrupats en cinc capítols segons la seva temàtica o el conjunt d'experiments dels quals provenen i escrits en el format d'articles científics. Abans de cada capítol s'especifica l'article en el qual està basat així com els seus autors.

Cal esmentar que els experiments van consistir en el seguiment des de la maternitat fins a l'escorxador de dos lots de porcs. La diferència fonamental entre aquests lots fou el tipus de mascles finalitzadors que es van utilitzar, a banda de l'època de l'any en què es van dur a terme els experiments. La resta de la metodologia va ser molt similar en tots dos lots, tal i com es detalla a cada article.



Tal i com s'observa en el següent organigrama (Figura 2), els garrins nascuts a cada lot van ser observats en granja de maternitat i després traslladats un grup al CCP i l'altre grup a una granja comercial, on es van conduir tota una altra sèrie d'experiments. Al marge del seguiment d'aquests dos lots d'animals, també es va fer un estudi de mortalitat durant el transport i l'espera en dos escorxadors al llarg de dos mesos.

**Figura 2. Organigrama general del disseny experimental en ambdós lots i els capítols obtinguts de cada experiment**



El capítol 1 està basat en

***Behavioural patterns and responses to novelty in pigs: the effect of age, time of day and halothane genotype.*** E. Fàbrega , J. Font , D. Carrión, A. Velarde, J.L. Ruiz-de-la-Torre, A. Diestre, X. Manteca.  
Enviat a *Applied Animal Behaviour Science*, desembre 2001



## CAPÍTOL 1

### **Behavioural patterns and responses to novelty in pigs: the effect of age, time of day and halothane genotype**

#### **ABSTRACT**

---

The aim of this study was to investigate the effect of halothane genotype on the behavioural patterns performed by pigs both in a social group and at an individual level. A total of 110 piglets (50 Nn and 60 NN) and 80 gilts (40 Nn and 40 NN) were observed in their farrowing or fattening pens at four commercial farms. The observations were carried out in two trials (51 piglets and 40 gilts in trial 1 and 59 piglets and 40 gilts in trial 2). Instantaneous scan sampling was used to record the frequencies of resting, non-sucking activity, sucking/eating or interactions between individuals. Besides, fifteen Nn and fifteen NN gilts were subjected to three replicates of an open field test to assess their response to novelty, measuring the number of lines crossed and number of defecations. Halothane genotype had, in general terms, a small and inconsistent effect on the behavioural patterns recorded in the piglets' and gilts' observations. In contrast, the "time" factor (i.e. age) increased the non-sucking activity and decreased resting performed by the piglets and had the opposite effect on the gilts' behaviour ( $P < 0.01$ ). Piglets and gilts were also seen to be more active in the afternoon compared with the morning ( $P < 0.01$ ). In the open field tests, NN gilts crossed the grid lines significantly more times compared with Nn gilts ( $P < 0.05$ ), but no differences in defecation score between genotypes were observed. These results suggest that, whereas in a social context, factors such as age or time of day have a greater influence on behaviour than halothane genotype, the gene may have an effect on the appraisal of novelty or the response to a stressful situation.

**Keywords:** halothane gene; Pig –social behaviour; open field test; stress.

---

## INTRODUCTION

The halothane gene (n) has been widely associated with a genetic susceptibility to suffer stress, since stressful stimuli are likely to trigger a potentially lethal condition known as malignant hyperthermia (MH) in homozygous positive pigs (nn). Both heterozygous (Nn) and homozygous positive pigs present a mutation in the *ryr-1* gene, which encodes the skeletal muscle ryanodine receptor (Fujii et al., 1991). The mutation is linked to an abnormal regulation of the  $\text{Ca}^{2+}$ -release channel, thereby inducing muscle contracture, hypermetabolism and hyperthermia (O'Brien et al., 1990). An important research effort has been directed towards understanding the physiology of these pigs (Marple and Cassens, 1973; Schaefer et al., 1987; O'Brien et al., 1990) and the consequences of the gene on productive and economical grounds (Larzul et al., 1997; Fisher et al., 2000; Gispert et al., 2000) as well as to define predictive tests to identify the three halothane genotypes (Fujii et al., 1991). This research has concluded that nn and Nn individuals present significantly higher mortality rates during transport and lairage (McPhee et al., 1994; Murray and Johnson, 1998) and poorer meat quality associated with a higher incidence of Pale, Soft and Exudative meat (PSE) than NN pigs (Gregory, 1998; Fisher et al., 2000; Gispert et al., 2000). However, few studies have attempted to unravel how the stress response interacts with the muscle metabolism of the pigs carrying the gene or whether the gene itself has an effect on the behaviour or temperament of those individuals.

Although originally the term “stress” was used to refer to the physiological responses involved in adaptation to the environment, nowadays the term usually refers to the animal's state when it is challenged beyond its behavioural and physiological capacity to adapt to its environment (Terlouw et al., 1997). Thus, suffering stress is generally associated with a compromise in animal welfare. During the last decade, the study of individual behavioural differences in “coping styles” in pigs confronted with a challenging or stressful situation has received much attention, in an attempt to provide information on the selection of animals that are better adapted to their environment and, thereby, enhance their welfare (Lawrence et al., 1991; Forkman et al., 1995; Jensen et al., 1995; Erhard and Mendl, 1999; Thodberg et al., 1999; Ruis et al., 2000). The results of these investigations searching for individual consistency over a period of time and situations, which would reflect a general reactivity pattern or temperament, have been somewhat contradictory. Moreover, most of these studies have not considered the halothane genotype of the pigs as

playing a role in their potential coping strategy, whereas the assumption of a genetic predisposition to stress linked to the gene underlies most of meat quality research.

Stress assessment is usually based on physiological and behavioural measurements. Along that line, the few studies that have investigated the effect of halothane gene on behaviour or stress physiology have found some differences in some behavioural patterns (Robert and Dallaire, 1986; Schaefer et al., 1989), cortisol or creatin-phospho kinase rises after stressful situations (Geers et al., 1994; Gispert et al., 2000) or sympatho-adrenomedullary functioning (Gregory and Wotton, 1981; de Roth et al., 1989) between genotypes.

The present study is part of a bigger investigation which aims to elucidate the benefits of eliminating the halothane gene from the Spanish breeding schemes, taking into account welfare, productivity and meat quality aspects. The behavioural study aimed at elucidating whether heterozygous and homozygous negative pigs differed in their behaviour in the typical social groups in commercial farms or when subjected to a non-social challenge like an Open Field test. Homozygous positive pigs (nn) were not used because they represent a low percentage of the Spanish slaughter pigs.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Experimental housing and animals**

The experiments were conducted at four commercial farms with similar housing conditions and consisted of two trials of observations in farrowing and fattening pens (first trial from August 1999 to January 2000 and second trial from January 2000 to July 2000) and one trial of open field tests (June 2000). Piglets were born in standard farrowing crates, provided with a warm creep area and a nipple drinker. Fattening pigs were kept in groups of 10 at an space allowance of 1.3 m<sup>2</sup>/pig, in pens with partly slatted floor and a drinking bowl. They were fed *ad libitum* with a standard pelleted growers food. In the first trial, the pigs observed were crosses of Large White×Landrace halothane free (NN) sows with two different heterozygous (Nn) terminal sires (Pietrain or Large White×Pietrain). In the second trial, the same sows were selected but crossed with three different terminal sires, a Pietrain homozygous positive (nn) and two Pietrain homozygous negative (NN). The rest of the experimental set up was identical for both trials.

Between 2 and 4 days of age, eye-teeth and tails were clipped, and iron was injected. Tail samples were used to determine the halothane genotype of the offspring in the first trial, using PCR amplification and digestion with restriction enzymes as described by Fujii et al. (1991). (The HAL-1843 trademark is licensed from Innovations Foundation, Toronto, Canada). Since sows and boars were all homozygous in the second trial, the halothane genotype of the offspring only needed to be confirmed with a random sample from 30 piglets. On the first day of age, 8 piglets (4 males and 4 females) were selected from 8 litters to be observed at their farrowing pens according to the protocol described in section 2.2. Removing data from individuals not identified genetically and from piglets which died during the experiments, a total of 51 individuals (21 Nn and 30 NN) were observed in the first trial and 59 (29 Nn and 30 NN) in the second one in the farrowing pens.

Piglets were weaned at 3 weeks of age and moved to a transition farm. At 9 weeks of age pigs were moved to the fattening pens with partly slatted concrete floors, where they were housed until 25 weeks of age (age of slaughter). There, 20 Nn and 20 NN gilts were selected and randomly assigned to 4 groups consisting of 10 gilts each (2 groups of Nn gilts and 2 of NN gilts) and were observed as described in section 2.2. Food (commercial pelleted dry diets) and water (from nipple drinkers) were available *ad libitum*.

The observed piglets were weighed one day after birth and at 20 days of age (on the day before weaning) and the gilts at 180 days of age (two days before slaughter).

### **Behavioural measurements**

The behaviour of the animals in the farrowing and fattening pens was observed directly using instantaneous scan sampling. The sample intervals were of 1 min for the observation of the piglets and 3 min for the gilts. Each litter was observed during a total of 12 hours, distributed in two morning (09:00-12:00) and two afternoon (15:30-18:30) observations of 3 hours each.

In the first trial, each group of gilts was observed for 32 hours, distributed in 16 hours of morning observations (08:00-12:00) and 16 hours of afternoon observations (13:00-17:00). Therefore, each group had 4 morning and four afternoon observations of 4 h each. However, the gilts had to be treated because of a respiratory problem just before the last observation, thus, these data have been discarded. In the second trial, all four groups were observed within a day, dividing the 4 hours of the morning and afternoon observations into

periods of 2 hours. Then, each group in the second trial had 8 morning and 8 afternoon observations.

The observations of the 8 litters and 4 groups of gilts were fitted to a Latin square design so that all groups were observed an equal number of times in the morning and afternoon. The ethograms defined to record the behaviour are summarised in Table 1 and Table 2 and were based on those used by Blackshaw et al. (1994) concerning the behaviour of the piglets and on Jensen (1980) and Schaefer et al. (1989) in relation to the behaviour of the gilts. These behavioural patterns were reduced to main categories for the analysis. Concerning the piglets' ethogram, three main categories were defined: non-sucking activity (including walking, running, interacting with another piglet or the pen or active at udder), resting (standing, lying or sitting) and sucking. The behaviour of the gilts was reduced to four general categories: activity (walking, running or exploring the pen), resting (standing, lying or sitting), eating and interactions (including agonistic and non-agonistic interactions).

**Table 1. Ethogram showing the behavioural categories of the observations of the piglets**

Behaviour	Definition
Lying	Lying on side or sternum in the pen or at the udder
Standing	Standing on four legs without movement
Walking	Walking through the pen
Running	Trotting, galloping through the pen
Sitting	Standing on fore-legs, hind quarter on the floor
Exploring	Sniffing, rooting, touching the walls or ground of the pen
Interacting with piglet	Contacting with another piglet (nudging, pushing, biting, playing)
Sucking	From the quiet phase after the piglets stopped massaging the udder and began sucking with slow movements and the rapid phase which corresponds to milk flow
Active at udder	Nudging udder, scrambling from teat to teat or moving around 25 cm of udder
Other	Piglet unsighted or behaving differently from above

**Table 2. Ethogram showing the behavioural categories of the observations of the gilts**

Behaviour	Definition
Lying	Lying on side or sternum
Standing	Standing on four legs without movement
Walking	Walking through the pen
Running	Trotting, galloping through the pen
Sitting	Standing on fore-legs, hind quarter on the floor
Exploring	Sniffing, rooting, touching the walls or ground of the pen
Agonistic interactions	Performing an aggressive (i.e. biting or replacing another gilt) or submissive (i.e. being replaced or bitten) act towards another gilt
Non-agonistic interactions	Performing a neutral act towards another gilt (i.e. nudging, nose-nose contact, nose-body contact)
Eating	Head in the feeder
Other	Gilt unsighted or behaving differently from above

### Open Field tests

Fifteen Nn gilts and fifteen NN of 19 weeks of age were randomly assigned to the open field (OF) tests. All tests were performed between 08:00 and 10:00. The subjects were individually tested for 5 min in a test room located in the same building but isolated from the home pen and measuring 4.5\_3.5 m<sup>2</sup> with 25 equal sized squares painted on the floor. A video camera was suspended above the centre of the arena and recording commenced before each pig was introduced to the pen. After the gilt was released in spot number 1, an observer in a neighbouring room also recorded the following behavioural patterns: number of lines crossed (i.e. both forelimbs crossed a line), occurrence of defecation (separated by >10 s) and latency to eat. The arena was cleaned between each test. Tests were carried out on 6 consecutive days so that each gilt was subjected to three replicates of this test two days apart from each other.

## **Statistical analysis**

Live weights of both genotypes at 2, 20 and 180 days of age were compared by means of a Student's t-test.

Mean frequencies of occurrence of the behavioural categories defined were calculated for each individual and genotype and time (i.e. age) were considered to be repeated measurements through time. Time of day of observation (i.e. morning or afternoon) proved to have an effect on behaviour, thus, the comparison of both genotypes was carried out for the morning and afternoon observations separately. Since only two measurements were recorded on the piglets' observations, a t-test for paired data was carried out to compare the two morning and two afternoon observations and a Student's t-test to compare the genotypes within each morning and afternoon. For the gilts' observations, the repeated measurements analysis was carried out using a PROC MIXED model, with time, genotype and its interaction as fixed effects. In the first trial, the covariance structure chosen was the autoregressive (AR(1)). In the second trial, the period in the morning or afternoon (i.e. first two hours or second two hours) was also considered alongside time and, therefore, the covariance structure chosen was Unstructured @ Autoregressive (UN @ AR(1)).

Individual consistency across the three replicates of the open field tests was assessed by calculating Spearman correlations of the number of lines crossed and defecations (inter-replicate correlation). Besides, Spearman correlation between number of defecations and lines crossed within each replicate was estimated (intra-replicate correlation). Latency to eat was not considered in the analysis because most of the animals did not perform this behaviour. Since inter-replicate correlations were significant for both number of lines crossed and defecations, the comparison between genotypes was carried out calculating the mean value of the three tests for each individual and comparing their rank by the Mann-Whitney test.

Statistical analysis was performed using the computer software Statistical Analysis System (SAS system for windows, version 8.1, 1999-2000). Level of significance was set at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

### Live weights

No significant differences were found between the live weights of the piglets or gilts of each genotype in any of the trials (Table 3).

**Table 3. Mean live weights (S.E.) of the animals observed at the farrowing and fattening pens in trial 1 and 2**

	Trial 1		Trial 2	
	NN	Nn	NN	Nn
Live weight at 1 day	1.82 (0.08)	1.77 (0.06)	1.69 (0.06)	1.59 (0.04)
Live weight at 20 days	6.75 (0.26)	6.79 (0.19)	5.64 (0.18)	5.57 (0.14)
Live weight at 180 days	108.53 (2.84)	102.94 (2.49)	102.58 (2.86)	104.85 (2.36)

*No significant differences were observed between genotypes*

### Piglets' behaviour

Mean frequencies and standard errors of the behavioural patterns performed by the piglets are summarised in Table 4 and Table 5.

In trial 1 (Table 4), halothane genotype did not affect any of the behaviours defined and time affected both genotypes equally. Non-sucking activity increased ( $P<0.01$ ) throughout the studied period and resting decreased ( $P<0.05$ ) significantly both in the morning and afternoon observations. Sucking was not affected significantly by time, but in the comparison between morning and afternoon, piglets showed a higher frequency of sucking in the afternoon ( $P<0.01$ ).

In trial 2 (Table 5), NN individuals showed a higher frequency of sucking in the two morning observations compared with Nn pigs ( $P<0.01$ ). Conversely, frequency of non-sucking activity in the first morning ( $P<0.05$ ) and resting in the first morning ( $P<0.01$ ) and first afternoon ( $P<0.01$ ) was higher for Nn than NN individuals. As for the changes through time, in the morning observations, resting increased ( $P<0.01$ ) for NN piglets and sucking decreased for both genotypes ( $P<0.01$ ). In the afternoon observations, resting for



Nn piglets and sucking for both genotypes ( $P<0.001$ ) decreased and non-sucking activity for both genotypes increased ( $P<0.001$ ).

**Table 4. Mean frequencies (S.E.) of the behavioural patterns of the two halothane genotype piglets (NN and Nn) observed in the farrowing pens in trial 1<sup>1</sup>**

Behaviour	Morning observations				Afternoon observations			
	M1		M2		A1		A2	
	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn
Resting	78.5 <sup>a</sup> (1.47)	77.4 <sup>a</sup> (1.43)	72.8 <sup>ab</sup> (3.08)	70.5 <sup>b</sup> (2.36)	76.3 <sup>a</sup> (1.67)	77.6 <sup>a</sup> (1.20)	67.1 <sup>b</sup> (2.69)	68.1 <sup>b</sup> (1.91)
Non-sucking activity	8.2 <sup>a</sup> (1.14)	9.7 <sup>a</sup> (1.02)	16.0 <sup>b</sup> (2.37)	18.0 <sup>b</sup> (1.86)	9.8 <sup>a</sup> (1.37)	9.2 <sup>a</sup> (0.95)	18.9 <sup>b</sup> (2.41)	17.0 <sup>b</sup> (1.65)
Sucking	9.8 <sup>ab</sup> (0.69)	9.9 <sup>ab</sup> (0.49)	9.1 <sup>ab</sup> (0.58)	8.5 <sup>a</sup> (0.44)	11.1 <sup>b</sup> (0.91)	10.4 <sup>ab</sup> (0.68)	9.9 <sup>ab</sup> (0.73)	10.3 <sup>ab</sup> (0.68)

**Table 5. Mean frequencies (S.E.) of the behavioural patterns of the two halothane genotype piglets (NN and Nn) observed in the farrowing pens in trial 2<sup>1</sup>**

Behaviour	Morning observations				Afternoon observations			
	M1		M2		A1		A2	
	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn
Resting	68.5 <sup>a</sup> (0.86)	73.9 <sup>b</sup> (1.21)	76.5 <sup>b</sup> (1.46)	78.3 <sup>b</sup> (1.56)	70.7 <sup>a</sup> (1.28)	75.2 <sup>b</sup> (0.92)	73.1 <sup>ab</sup> (1.31)	70.4 <sup>a</sup> (1.39)
Non-sucking activity	10.1 <sup>a</sup> (0.67)	13.6 <sup>b</sup> (1.36)	11.4 <sup>ab</sup> (1.01)	12.2 <sup>ab</sup> (1.39)	13.1 <sup>ab</sup> (1.01)	10.3 <sup>ab</sup> (1.08)	16.6 <sup>c</sup> (1.08)	19.5 <sup>c</sup> (1.34)
Sucking	19.8 <sup>a</sup> (1.11)	10.9 <sup>b</sup> (0.58)	10.8 <sup>b</sup> (0.59)	8.1 <sup>c</sup> (0.55)	14.4 <sup>b</sup> (0.67)	13.1 <sup>b</sup> (0.63)	8.4 <sup>c</sup> (0.46)	7.9 <sup>c</sup> (0.39)

<sup>1</sup> Mean values with different superscripts in the same row differ at  $P<0.05$

M1= First morning; M2= Second morning; A1= First afternoon; A2= Second afternoon

## Fattening gilts' behaviour

Mean frequencies and standard errors of the behavioural patterns seen in the fattening pens are shown in Table 6, 7, 8 and 9.

In the first trial (Table 6 and 7), activity decreased and resting increased ( $P<0.001$ ) throughout the period both in the morning and afternoon observations. Interactions were also affected significantly by time in the afternoons, the first two afternoons showing a higher frequency compared with the last one ( $P<0.001$ ). Genotype of the gilts had an effect on agonistic behaviour the first morning and second afternoon, halothane carriers performing a higher frequency of interactions compared with halothane free gilts ( $P<0.05$ ). The frequency of visits to the feeding trough was also affected by halothane genotype the first and second morning. In both observations, halothane free gilts showed a higher frequency of eating behaviour compared with halothane carriers ( $P<0.05$ ). Halothane did not affect activity or resting frequencies. In the general comparison between morning and afternoon, the gilts were observed to be significantly more active during the afternoons ( $16.4 \pm 5.12$  vs.  $8.9 \pm 3.8\%$ ,  $P<0.001$ ).

In the second trial (Tables 8 and 9), activity decreased and resting increased significantly throughout time in the afternoon observations ( $P<0.001$ ). In the morning observations, frequency of interactions was higher during the first morning and then decreased and kept steady after the third morning ( $P<0.001$ ). Halothane genotype had an effect on several behavioural patterns, but it was related to the observation (i.e. the interaction between genotype and time was significant). In the morning observations, the frequency of resting was higher for NN individuals in morning 1 ( $P<0.01$ ), but higher for Nn gilts in morning 8 ( $P<0.05$ ). Activity was higher for Nn gilts in morning 1 ( $P<0.01$ ), but higher for NN individuals in mornings 2, 3 and 8 ( $P<0.05$ ). The frequency of eating behaviour was higher for Nn gilts in mornings 1, 3, and 5 ( $P<0.01$ ), but it was higher for NN gilts in morning 6 ( $P<0.01$ ). In the afternoon observations, halothane carriers showed a higher frequency of inactivity in afternoon 4 than NN gilts ( $P<0.01$ ). Frequency of interactions was found to be higher for NN gilts in afternoon 1 and 4 compared with Nn gilts ( $P<0.001$ ), but higher for Nn gilts in afternoon 7 ( $P<0.05$ ). Halothane carriers were seen visiting the feeding trough more frequently in afternoon 1 ( $P<0.01$ ), but halothane free gilts showed a higher frequency of eating than Nn gilts in afternoon 4 ( $P<0.05$ ).

The general comparison between mornings and afternoons showed the same results as trial 1 (i.e. gilts were more active and visited the feeding trough more frequently in the afternoons,  $P < 0.001$ ).

**Table 6. Mean frequencies (S.E.) of the behavioural patterns of the two halothane genotype gilts recorded in the morning observations in trial 1<sup>1</sup>**

Behaviour	Morning 1		Morning 2		Morning 3	
	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn
Resting	70.0 <sup>a</sup> (2.46)	69.8 <sup>a</sup> (2.99)	72.1 <sup>ab</sup> (1.91)	76.9 <sup>b</sup> (1.63)	79.0 <sup>c</sup> (1.72)	76.5 <sup>cb</sup> (1.97)
Activity	12.9 <sup>ab</sup> (1.62)	16.2 <sup>a</sup> (2.56)	10.2 <sup>b</sup> (1.15)	7.6 <sup>bc</sup> (0.97)	6.2 <sup>c</sup> (1.02)	8.1 <sup>bc</sup> (1.19)
Interactions	3.8 <sup>a</sup> (0.56)	6.1 <sup>b</sup> (0.63)	5.9 <sup>ab</sup> (0.91)	6.3 <sup>b</sup> (0.84)	4.3 <sup>ab</sup> (0.59)	5.8 <sup>ab</sup> (1.04)
Eating	11.4 <sup>a</sup> (1.01)	6.5 <sup>b</sup> (0.89)	10.4 <sup>a</sup> (0.93)	7.1 <sup>b</sup> (0.70)	8.4 <sup>ab</sup> (1.19)	7.9 <sup>ab</sup> (0.91)

**Table 7. Mean frequencies (S.E.) of the behavioural patterns of the two halothane genotype gilts recorded in the afternoon observations in trial 1<sup>1</sup>**

Behaviour	Afternoon 1		Afternoon 2		Afternoon 3	
	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn
Resting	53.7 <sup>a</sup> (2.61)	50.8 <sup>a</sup> (3.94)	59.6 <sup>b</sup> (2.01)	56.3 <sup>b</sup> (2.17)	65.5 <sup>c</sup> (3.67)	67.7 <sup>c</sup> (1.99)
Activity	21.1 <sup>a</sup> (1.67)	25.5 <sup>a</sup> (3.78)	14.8 <sup>b</sup> (1.31)	16.8 <sup>b</sup> (1.36)	11.8 <sup>c</sup> (1.33)	13.1 <sup>bc</sup> (1.35)
Interactions	9.3 <sup>a</sup> (0.83)	8.7 <sup>a</sup> (1.10)	9.7 <sup>a</sup> (1.17)	13.1 <sup>b</sup> (0.84)	7.6 <sup>ac</sup> (1.28)	5.5 <sup>c</sup> (0.67)
Eating	12.5 <sup>a</sup> (1.16)	11.2 <sup>a</sup> (1.04)	13.0 <sup>a</sup> (1.11)	10.8 <sup>a</sup> (0.88)	11.5 <sup>a</sup> (1.01)	10.3 <sup>a</sup> (0.75)

<sup>1</sup> Mean frequencies with different superscripts in the same row differ at  $P < 0.05$

**Table 8. Mean frequencies (S.E.) of the behavioural patterns of the two halothane genotype gilts recorded in the morning observations in trial 2**

Behaviour	Morning 1		Morning 2		Morning 3		Morning 4		Morning 5		Morning 6		Morning 7		Morning 8	
	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn
Resting	80.1 <sup>a</sup> (2.62)	68.2 <sup>b</sup> (2.62)	83.8 <sup>a</sup> (2.38)	85.6 <sup>a</sup> (2.29)	91.9 <sup>c</sup> (2.30)	90.5 <sup>c</sup> (1.85)	87.2 <sup>c</sup> (1.98)	88.3 <sup>c</sup> (2.02)	91.3 <sup>c</sup> (1.29)	88.6 <sup>c</sup> (0.17)	77.4 <sup>a</sup> (1.72)	83.2 <sup>a</sup> (4.62)	82.8 <sup>a</sup> (1.52)	82.8 <sup>a</sup> (2.19)	74.8 <sup>b</sup> (2.99)	81.8 <sup>a</sup> (2.27)
Activity	11.3 <sup>a</sup> (1.86)	19.8 <sup>b</sup> (2.49)	11.3 <sup>a</sup> (2.03)	6.5 <sup>c</sup> (1.41)	4.8 <sup>d</sup> (1.22)	2.3 <sup>e</sup> (0.98)	5.6 <sup>cd</sup> (0.88)	3.7 <sup>d</sup> (0.69)	4.3 <sup>d</sup> (1.09)	5.0 <sup>d</sup> (0.93)	10.4 <sup>a</sup> (1.73)	9.4 <sup>a</sup> (3.88)	6.9 <sup>c</sup> (0.92)	7.9 <sup>c</sup> (1.10)	12.3 <sup>a</sup> (2.06)	6.5 <sup>c</sup> (0.94)
Interactions	3.7 <sup>a</sup> (0.58)	4.3 <sup>a</sup> (0.61)	2.3 <sup>b</sup> (0.45)	2.9 <sup>b</sup> (0.74)	1.9 <sup>b</sup> (1.05)	1.8 <sup>b</sup> (0.61)	2.3 <sup>b</sup> (0.72)	3.3 <sup>ab</sup> (0.79)	2.6 <sup>b</sup> (0.55)	1.8 <sup>b</sup> (0.56)	3.2 <sup>ab</sup> (0.66)	3.1 <sup>ab</sup> (0.82)	3.2 <sup>ab</sup> (0.81)	2.1 <sup>b</sup> (0.59)	3.7 <sup>ab</sup> (0.74)	2.9 <sup>b</sup> (0.65)
Eating	3.8 <sup>a</sup> (0.95)	6.5 <sup>b</sup> (0.82)	1.7 <sup>a</sup> (0.69)	3.4 <sup>a</sup> (0.94)	1.1 <sup>c</sup> (0.56)	3.8 <sup>a</sup> (0.96)	3.9 <sup>a</sup> (1.14)	4.1 <sup>a</sup> (1.05)	1.2 <sup>c</sup> (0.57)	3.3 <sup>a</sup> (0.78)	7.3 <sup>b</sup> (1.20)	3.4 <sup>a</sup> (0.86)	5.4 <sup>b</sup> (0.93)	5.4 <sup>b</sup> (1.27)	6.3 <sup>b</sup> (1.21)	6.6 <sup>b</sup> (1.05)

Mean frequencies with different superscripts in the same row differ at  $P < 0.05$

**Table 9. Mean frequencies (S.E.) of the behavioural patterns of the two halothane genotype gilts recorded in the afternoon observations in trial 2**

Behaviour	Afternoon 1		Afternoon 2		Afternoon 3		Afternoon 4		Afternoon 5		Afternoon 6		Afternoon 7		Afternoon 8	
	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn	NN	Nn
Resting	58.5 <sup>a</sup> (4.71)	64.8 <sup>a</sup> (1.90)	71.6 <sup>b</sup> (2.85)	74.9 <sup>b</sup> (1.63)	78.9 <sup>c</sup> (2.52)	81.7 <sup>c</sup> (2.32)	72.6 <sup>b</sup> (2.93)	82.4 <sup>c</sup> (3.28)	85.0 <sup>c</sup> (2.98)	84.8 <sup>c</sup> (3.09)	80.7 <sup>c</sup> (3.10)	81.1 <sup>c</sup> (3.27)	91.1 <sup>d</sup> (2.04)	89.3 <sup>d</sup> (2.05)	90.5 <sup>d</sup> (1.94)	91.3 <sup>d</sup> (1.75)
Activity	23.1 <sup>a</sup> (1.77)	17.5 <sup>a</sup> (1.51)	17.1 <sup>a</sup> (2.55)	14.5 <sup>a</sup> (1.51)	9.3 <sup>b</sup> (1.42)	7.6 <sup>b</sup> (1.21)	13.2 <sup>ab</sup> (2.67)	9.3 <sup>b</sup> (1.51)	6.7 <sup>b</sup> (1.48)	6.9 <sup>b</sup> (1.29)	7.3 <sup>b</sup> (1.93)	7.7 <sup>b</sup> (1.72)	4.3 <sup>c</sup> (0.88)	3.3 <sup>c</sup> (0.89)	3.9 <sup>c</sup> (1.02)	2.8 <sup>c</sup> (0.57)
Interactions	12.0 <sup>a</sup> (1.38)	5.0 <sup>b</sup> (0.72)	3.3 <sup>c</sup> (0.82)	2.1 <sup>c</sup> (0.44)	3.3 <sup>c</sup> (0.59)	3.1 <sup>c</sup> (1.05)	5.2 <sup>b</sup> (0.87)	2.3 <sup>c</sup> (0.74)	1.8 <sup>c</sup> (0.68)	2.7 <sup>c</sup> (0.79)	4.4 <sup>bc</sup> (1.43)	2.3 <sup>c</sup> (0.72)	0.6 <sup>d</sup> (0.30)	1.9 <sup>c</sup> (0.65)	2.7 <sup>c</sup> (0.83)	1.3 <sup>c</sup> (0.57)
Eating	6.4 <sup>a</sup> (1.60)	10.4 <sup>b</sup> (0.98)	4.8 <sup>c</sup> (0.74)	5.2 <sup>c</sup> (0.72)	5.4 <sup>ac</sup> (1.53)	5.7 <sup>a</sup> (1.61)	6.1 <sup>a</sup> (0.96)	4.3 <sup>cd</sup> (1.36)	5.2 <sup>ac</sup> (1.29)	3.8 <sup>cd</sup> (1.27)	5.9 <sup>a</sup> (1.17)	6.5 <sup>a</sup> (1.43)	2.8 <sup>d</sup> (0.85)	4.4 <sup>cd</sup> (1.11)	1.9 <sup>d</sup> (0.97)	3.9 <sup>cd</sup> (1.17)

Mean frequencies with different superscripts in the same row differ at  $P < 0.05$

## Open field tests

Spearman inter-replicate correlations were found to be significant for all paired comparisons both for number of grid lines crossed and defecations ( $P < 0.05$ ). Conversely, intra-replicate correlations (i.e. number of grid lines crossed vs. defecations) were not significant. According to the mean value of the three tests (Table 10), NN individuals crossed the grid lines significantly more times than Nn gilts ( $P < 0.05$ ). Mean number of defecations did not differ between genotypes.

**Table 10. Mean values (S.E.) of the parameters recorded during the open field tests for the two halothane genotypes**

Data category	Test 1		Test 2		Test 3		Overall mean rank	
	NN	Nn	NN	Nn	Nn	Nn	NN	Nn
Number of grid lines crossed	69.8 (7.09)	60.9 (4.78)	79.7 (7.82)	62.4 (3.73)	68.1 (5.15)	57.4 (6.76)	18.6 <sup>a</sup>	12.4 <sup>b</sup>
Number of defecations	1.5 (0.45)	1.4 (0.24)	1.5 (0.36)	1.5 (0.27)	2.0 (0.40)	1.5 (0.25)	16.3 <sup>a</sup>	14.7 <sup>a</sup>

*Overall mean ranks with different superscripts in the same row differ at  $P < 0.05$ .*

## DISCUSSION

Although the main objective of this study was to investigate the effect of halothane genotype on behaviour, the experimental design also enables us to discuss the effects of age (time factor in the analysis) or period of observation (morning or afternoon). Moreover, the latter factors surpassed the effects of the genotype in relation to the behaviour of the pigs in the fattening and farrowing pens. Accordingly, this aspect will be discussed first.

### Effects of age and period of day on the behaviour of piglets and gilts

The results obtained in the farrowing pens are similar to those reported by Blackshaw et al. (1994, 1997). The increase of non-sucking activity and decrease of resting throughout the experimental period may be explained not only by the achievement of a certain degree of physiological and locomotive maturation, but also by the appearance of play behaviour

and exploration. Previous studies have described how play behaviour appears at about 3-5 days and increases with age, although levelling off at 26-30 days in farm conditions (Blackshaw et al., 1997) or having a peak between 2 and 6 weeks in semi-natural conditions (Newberry and Wood-Gush, 1988). Naso-naso contact and piglet play with the sow, which are believed to be important behavioural patterns in establishing the maternal-infant bond (Blackshaw and Hagelsø, 1990), also appear one to two days after birth. Also in agreement with previous investigations (Newberry and Wood-Gush, 1988), the frequency of sucking decreased throughout the experimental period in the second trial, but this difference was not significant in the first trial. This lack of accord between results may be an indication that the age of weaning in the present study (an average of 20 days) is still a “borderline” period in terms of sucking motivation and physiological maturation. Along that line, Weary et al. (1999) suggested that separation distress and frustration of sucking motivation were significant problems when piglets were weaned at less than 4 weeks of age.

Time of day of observation also significantly affected the behavioural patterns recorded in the farrowing pens. In line with findings presented by Blackshaw et al. (1997), a higher frequency of activity was observed in the afternoon. These authors suggested that this was a reflection of a general increase in wakefulness and physical activity at that time. However, in contrast to their results, frequency of sucking was found to differ between morning and afternoon, the latter being higher. This may be associated with methodological differences, since we recorded frequency whereas they recorded duration of sucking period, which varies over a period of time (Niwa et al., 1951), but is expected to be similar at different times of the same day. Moreover, it may be possible to speculate that this higher frequency of sucking in the afternoon could be a reflection of the future daily food intake patterns in growing pigs, for which two peaks of feeding activity have been described: a smaller one in the morning and a larger one at the beginning of the afternoon (de Haer and Merks, 1992).

In general terms, the frequencies of the behaviours performed by the growing gilts are similar to those reported previously in other works (Marotta et al., 1985; Schaefer et al., 1989). In this case, time had the opposite effect on gilts' behaviour compared with the piglets': it increased resting and decreased activity. Juvenile individuals may be engaged in a major non-sucking activity mainly as a result of play behaviour and the physical activity involved in it. As reported previously, Newberry and Wood-Gush (1988) described a peak

in play behaviour between 2 and 6 weeks of age and noted that afterwards some of the behavioural patterns related to it could generate social tension, since pigs would be establishing their dominance relationships. In the present study, agonistic or non-agonistic interactions were not included in the “activity” parameter in the gilts’ observations and were less affected by time, remaining steady throughout most of the observations. This may be due to the fact that social play behaviour helps to determine dominance patterns and group hierarchies (Blackshaw et al., 1997), but once these relationships have been established the physical activity and play contacts decrease and agonistic interactions appear only in conflict situations. It is also interesting to point out that the decrease in activity during the experimental period was more important in trial 2 compared with trial 1. This may be related to the effect of environmental conditions on behaviour, as observations of trial 1 were carried out from October to December whereas those of trial 2 from April to June when the increasing heat may have resulted in higher inactivity frequencies.

Time of day of observation also had an effect on behaviour of the gilts, being the general frequency of activity and eating more in the afternoon like in the piglets’ observations. As reported previously, daily food intake patterns in growing pigs include two feeding peaks, the one at the beginning of the afternoon being more pronounced (de Haer and Merks, 1992; Labroue and Malbert, 1995). In natural conditions, behavioural synchronization in animals living in groups by means of social facilitation has been given an adaptive value (Pulliam and Caraco, 1984). Although this benefit does not apply in farm conditions, Morgan et al. (1999) argued that the underlying behavioural mechanisms may remain. Thus, these preferred feeding peaks may be a consequence of social facilitation which may also have an effect on general activity. Another interesting remark is the fact that, in the second trial, even though the general feeding frequency (i.e. the average of the 8 morning or 8 afternoon observations) was found to be higher in the afternoon, the morning peak increased throughout time and was higher than the afternoon peak in the last observations. This may be attributed again to the environmental conditions, as in summer most species have been observed to concentrate their activities at dawn and dusk.

### **Effect of halothane genotype on behaviour**

In general terms, halothane genotype had a small effect on the behaviour of the piglets and gilts in both trials. The two halothane genotypes piglets and gilts differed significantly



in several behavioural patterns, but the differences were not consistent during the experiments (for example, in trial 2 Nn pigs were seen to be more active than NN the first morning but less active the second morning). Although the results of Schaefer et al. (1989) suggested that there could be some specific differences in behaviour among halothane free, halothane carriers and halothane positive individuals, the present study does not provide enough evidence to support clear-cut different behavioural strategies between Nn and NN pigs in normal farm groups. It is interesting to point out that Schaefer et al. (1989) found that the major differences lie between nn and NN pigs, whereas in the present study nn pigs were not included because they represent a low percentage of the Spanish fattening pig population. Furthermore, as discussed previously, factors such as age and time of day proved to have a more important impact on social group behaviour and dynamics than the halothane background of the individuals.

However, the results of the open field tests suggest that individual differences may be found between Nn and NN pigs when challenged by a presumably frightening or stressful situation. Behaviour of an individual in an open field test results from the conflicting motivations between exploration and fear-aversion of a new environment (Gray, 1987). The usual interpretation of the open field data in rodents has been that a high defecation rate and low activity indicate a high level of fear or emotionality (Broadhurst, 1954). Other investigations on rodents, however, have suggested that measurements of defecation and locomotion in the open field test load on two different independent components, which represent emotionality and activity, respectively (Ramos et al., 1997). In pigs, the interpretation of the open field test has also been somewhat contradictory. Some investigations (Spoolder et al., 1996; Thodberg et al., 1999) have found that the biggest proportion of the variance was explained by behaviour related to fear, whereas some other studies have described exploration-activity as the major component of the variance (Jensen et al., 1995; Andersen et al., 2000). These differences may be linked to a certain age dependency in exploratory behaviour (Wood-Gush et al., 1990). Piglets, as used by Jensen et al. (1995), are in an earlier developmental stage and have no previous experience with novelty, and this can explain a higher motivation to explore compared with gilts as used by Thodberg et al. (1999). Thus, in the present study, the higher immobility of Nn gilts may be related to a more fearful appraisal of novelty. Shea-Moore (1998) also found that pigs selected for high levels of lean gain showed lower levels of activity in an open field test than pigs selected for low levels of lean gain, even though straightforward comparisons are

not possible because they did not determine halothane genotype. Along that line, disturbed corticosteroid levels (i.e. very low or very high) have been found to influence the behavioural reactivity to novelty in rats (Oitzl et al., 1994) and this relationship may also exist in pigs (de Jong et al., 2000). Unfortunately, no data on cortisol levels were available in the present study. However, other investigations (Marple and Cassens, 1974; Fàbrega et al., 2001) have found higher cortisol rises in halothane carriers after stressful situations. Therefore, it can be argued that differences in behavioural reactivity to novelty between NN and Nn pigs could be mediated by cortisol circulating levels, although further research is necessary to test this hypothesis.

Another interesting result was the lack of correlation between defecation and locomotive activity. In line with this finding, Hutson et al. (2000) found that elimination in open field tests failed to discriminate between different aversive stimuli and Andersen et al. (2000) also reported no correlation between the defecation score and locomotion or the rotated factors in their principal component analysis (i.e. “fear of novelty” or “activity”). For this reason, the latter authors suggested that defecation in pigs may not represent a general response to frightening situations in the same manner as for rodents.

Literature on consistency of replicates of tests and on inter-test correlations also presents controversial results, which have been attributed to differences in the stability of the underlying motivations of the behavioural and physiological reactions to a certain test (Erhard and Mendl, 1999; Ruis et al., 2000). To some extent, the time span between subsequent tests may be one of the explanations for these conflicting results, since perception of novelty may change not only by habituation but also by aging. The replicates in the present study were two days apart and, in agreement with studies with a similar time span (Hessing et al., 1994; Jensen et al., 1995), a significant correlation was found between them for both genotypes. Other studies have reported that susceptibility to tonic immobility changes across different test days (Erhard and Mendl, 1999) or that willingness of pigs to move from their home pens voluntarily increases upon reexposure (Geverink et al., 1998). In the present investigation, it could be that a larger number of repetitions should have been required in order to observe a reduction in fearfulness.

## CONCLUSIONS

Although halothane gene had a non-consistent effect on the behavioural patterns of piglets and gilts in their social groups, the results of the open field test indicate that differences in the reactions of Nn and NN gilts to a novel environment may exist. This would support the assumption that halothane gene influences the stress response not only because of the differences in muscle metabolism, but also because of a different perception of aversive or novel situations.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the personnel of the four commercial farms involved and the university technicians for their practical assistance. This study was funded by the Spanish Ministry of Science and Technology (project 2FD-97-0022-CO3).

## REFERENCES

- Andersen, L.I., Bøe, K.E., Foerevik, G., Janczak, A.M., Bakken, M.,** 2000. Behavioural evaluation of methods for assessing fear responses in weaned pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 69, 227-240.
- Blackshaw, J.K., Hagelsø, A.M.,** 1990. Getting-up and lying-down behaviour of loose-housed sows and social contacts between sows and piglets during day 1 and day 8 after parturition. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 25, 61-70.
- Blackshaw, J.K., Blackshaw, A.W., Thomas, F.J., Newman, F.W.,** 1994. Comparison of behaviour patterns of sows and litters in a farrowing crate and farrowing pen. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 39, 281-295.
- Blackshaw, J.K., Swain, A.J., Blackshaw, A.W., Thomas, F.J.M., Gillies, K.J.,** 1997. The development of playful behaviour in piglets from birth to weaning in three farrowing environments. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 55, 37-49.
- Broadhurst, P.L.,** 1957. Determinants of emotionality in the rat: I. Situational factors. *Br. J. Psychol., Med. Sect.* 48, 1-12.
- DeRoth, L., Vermette, L., Blouin, A., Laiviere, N.** 1989. Blood catecholamines in response to handling in normal and stress susceptible swine. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 22, 255-260.

- de Haer, I.C.M., Merks, J.W.M.**, 1992. Patterns of daily food intake in growing pigs. *Anim. Sci.* 54, 95-104.
- de Jong, I.C., PELLE, I.T., van de Burgwal, J.A., Lambooi, E., Korte, S.M., Blokhuis, H.J., Koolhaas, J.M.**, 2000. Effects of environmental enrichment on behavioral responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. *Physiol. Behav.* 68, 571-578.
- Erhard, H.W., Mendl, M., Christiansen, S.B.**, 1999. Individual differences in tonic immobility may reflect behavioural strategies. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 64, 31-46.
- Fàbrega, E. Manteca, X. Font, J. Gispert, M. Carrión, D. Velarde, A. Ruiz-de-la-Torre, J.L. and Diestre, A.**, 2001. Effect of halothane gene and pre-slaughter treatment on meat quality and welfare from two pig crosses. *Meat Sci.* (in press)
- Fisher, P., Mellett, F.D., Hoffman, L.C.**, 2000. Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. *Meat Sci.* 54, 97-105.
- Forkman, B., Furuhaug, I.L., Jensen, P.**, 1995. Personality, coping patterns, and aggression in piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 45, 31-42.
- Fuji, 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, 448-451.
- Geers, R., Bleus, E., Van Shie, T., Villé, H., Gerard, H., Janssens, S., Nackaerts, G., Decuyper, E., Jourquin, J.**, 1994. Transport of pigs different with respect to the halothane gene: stress assessment. *J. Anim. Sci.* 72, 2552-2558.
- Geverink, N.A., Kappers, A., van de Burgwal, J.A., Lambooi, E., Blokhuis, H.J., Wiegant, V.M.**, 1998. Effects of regular moving and handling on the behavioral and physiological consequences of pigs to preslaughter treatment and consequences for subsequent meat quality. *J. Anim. Sci.* 76, 2080-2085.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A, Guàrdia, M.D., Coll, C., Siggers, K., Harvey, K., Diestre. A.**, 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Sci.* 55, 97-106.
- Gray, J.A.**, 1987. *The Psychology of Fear and Stress.* Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 422.
- Gregory, N.G., Wotton, S.B.**, 1981. Autonomic and non-autonomic control of cardiovascular function in stress-sensitive pigs. *J. Vet. Phar. Ther.* 4, 183-191.

- Gregory, N.G.** 1998. *Animal Welfare and Meat Science*. CAB International, Wallingford, pp.165-183.
- Hessing, M.J.C., Hagelsø, A.M, Schouten, W.P.G., Wiepkema, P.R., van Beek, J.A.M,** 1994. Individual behavioral and physiological characteristics in pigs. *Physiol. Behav.* 55, 39-46.
- Hutson, G.D., Ambrose, T.J., Barnett, J.L., Tilbrook, A.J.** 2000. Development of a behavioural test of sensory responsiveness in the growing pig. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 66, 187-202.
- Jensen, P.,** 1980. An ethogram of social interaction patterns in group housed dry sows. *Appl. Anim. Ethol.* 6, 341-350.
- Jensen, P., Rushen, J., Forkman, B.,** 1995. Behavioural strategies or just individual variation in behaviour? A lack of evidence for active and passive piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 43, 135-139.
- Labroue, F., Malbert, C.H.,** 1995. Comportement alimentaire du porc en croissance au cours d'une periode de 24 h, INRA, F 35590, St Gilles.
- Larzul, C., le Roy. R., Guéblez, R., Talmant, A., Gogué, J., Sellier, P., Monin, G.,** 1997. Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 Kg or 125 Kg live weight. *J. Anim. Breed. Genet.* 114, 309-320.
- Lawrence, A.B., Terlouw, E.M.C., Illius, A.W.,** 1991. Analysis of temperament in pigs exposed to non-social and social challenges. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 30, 73-86.
- Marotta, E., Lagreca, L., Avellato, S.,** 1985. Actividad diurna de los cerdos en terminación. X Cong. Panamericano Vet. y Zootec. y V Cong. Argentino Cs Vet; Soc. Mec. Vet.; Buenos Aires; Argentina. Mem. n° 035.
- Marple, D.N., Cassens, R.G.,** 1973. Increased metabolic clearance of cortisol by stress-susceptible swine. *J. Anim. Sci.* 36, 1139-1142.
- McPhee, C.P., Daniels, L.J., Kramer, H.L., Macbeth. G.M., Noble, J.W.,** 1994. The effects of selection for lean growth and halothane allele on growth performance and mortality of pigs in a tropical environment. *Liv. Prod. Sci.* 38, 117-123.
- Morgan, C.A, Nielsen, B.L., Lawrence. A.B., Mendl, M.T.,** 1999. Describing the social environment and its effects on food intake and growth. In: Kyriazakis, I. (Ed.), *A quantitative biology of the pig*. CAB International, Wallingford, pp.99-125.

- Murray, A.C., Johnson, C.P.**, 1998. Impact of the halothane gene on muscle quality and pre-slaughter deaths in Western Canadian pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 78, 543-548.
- Newberry, R.C., Wood-Gush, D.G.M.**, 1988. Development of some behaviour patterns in piglets under semi-natural conditions. *Anim. Prod.* 46, 103-109
- Niwa, T., Ito, S., Yokohama, H., Otsuka, M.**, 1951. Studies on milk secretion in the sow. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci., Tokyo (Ser G)* 1,135-150.
- O'Brien, P.J., Klip, A., Britt, B.A., Kalow, B.I.**, 1990. Malignant hyperthermia susceptibility: biochemical basis for pathogenesis and diagnosis. *Can. J. Vet. Res.* 54, 83-92.
- Oitzl, M.S., Fluttert, M., de Kloet, E.R.**, 1994. The effect of corticosterone on reactivity to spatial novelty is mediated by central mineralcorticoid receptors. *Eur. J. Neurosci.* 6, 1072-1079.
- Pulliam, H.R., Caraco, T.**, 1984. Living in groups: is there an optimal group size? In: J.R. Krebs, J.R. and Davies, N.B. (Eds), *Behavioural Ecology. An evolutionary approach*, 3rd edn. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, pp. 122-147.
- Ramos, A., Berton, O., Mormède, P., Chaouloff, F.**, 1997. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behav. Brain Res.* 85, 57-69.
- Robert, S., Dallaire, A.**, 1986. An exploratory study of behavioural differences between young pigs susceptible and non-susceptible to stress syndrome. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16, 335-343.
- Ruis, M.A.W., te Brake, J.H.A., van de Burwal, J.A., de Jong, I.C., Blokhuis, H.J., Koolhaas, J.M.**, 2000. Personalities in female domesticated pigs: behavioural and physiological indications. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 66, 31-47.
- Schaefer, A.L., Doornenbal, H., Tong, A.K.W., Murray, A.C., Sather, A.P.**, 1987. Effect of time off feed on blood acid-base homeostasis in pigs differing in their reaction to halothane. *Can. J. Anim. Sci.* 67: 427-436.
- Schaefer, A.L., Sather, A.P., Tong, A.K.W., Lepage, P.**, 1989. Behaviour in pigs from three genotypes segregating at the halothane locus. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 23, 15-25.
- Shea-Moore, M.M.**, 1998. The effect of genotype on behavior in segregated early-weaned pigs tested in an open field. *J. Anim. Sci* 76 (Suppl.1), 100.
- Spooler, H.A.M, Burbidge, J.A., Lawrence, A.B, Simmins, P.H., Edwards, S.A.**, 1996. Individual behavioural differences in pigs: intra- and inter-test consistency. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 49, 185-198.

- Terlouw, E.M.C., Schouten, W.G.P., Ladewig, J.,** 1997. Physiology. In: Appleby, M.C., Hughes, B.O. (Eds), *Animal Welfare*. CAB International, Walingford, UK, pp 143-158.
- Thodberg, K., Jensen, K.H., Herskin, M.S.,** 1999. A general reaction pattern across situations in prepubertal gilts. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 63, 103-119.
- Weary, D.M., Appleby, M.C., Fraser, D.,** 1999. Responses of piglets to early separation from the sow. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 63, 289-300.
- Wood-Gush, D.G.M., Vestergaard, K., Volker Petersen, H.,** 1990. The significance of motivation and environment in the development of exploration in pigs. *Biol. Behav.* 15, 39-52.

El capítol 2 està basat en

*Effects of halothane gene and pre-slaughter treatment on meat quality and welfare from two pig crosses.*

E. Fàbrega, X. Manteca, J. Font, M. Gispert, D. Carrión, A. Velarde, J.L. Ruiz-de-la-Torre , A. Diestre.  
Acceptat per *Meat Science*, 14 gener 2002 (en premsa)



## CAPÍTOL 2

### Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on meat quality and welfare from two pig crosses

#### ABSTRACT

Pigs from the crosses of a Pietrain (Pi) and a Large White×Pietrain (LwPi) heterozygous (Nn) boar lines with Landrace×Large White homozygous negative (NN) sows, were used to study the effect of halothane genotype and pre-slaughter treatment on animal welfare and meat quality. A total of 83 gilts (47 NN and 36 Nn) were assigned to a long treatment (3 h 15 min transport and 12 h lairage) and 73 (39 NN and 34 Nn) to a short treatment (30 min transport and 2 h lairage). Heart rate was recorded throughout loading and transport. Blood samples were collected before loading, after transport, and at exsanguination to measure cortisol, creatine phospho-kinase (CPK) and lactate dehydrogenase (LDH). Carcasses were classified and commercial cutting was carried out. Meat quality was assessed on the *Longissimus thoracis* muscle by measuring electrical conductivity (PQM), colour (Minolta CR 200 and Japanese scale) and ultimate pH. Loin drip losses were assessed at 24 h. Halothane carriers showed a higher increase in cortisol levels after transport and exsanguination in the long treatment ( $P<0.05$ ) as well as in LDH and CPK after exsanguination in the short treatment ( $P<0.05$ ). In this treatment, halothane free pigs recovered during lairage when comparing LDH and CPK increases after exsanguination to their increases after transport. No effect of halothane genotype on heart rate was observed. Pi sired pigs were leaner and had higher yields of leg and loin compared with LwPi sired pigs ( $P<0.001$ ), but no differences in meat quality were observed between crosses. Halothane carriers had a higher estimated lean content ( $P<0.01$ ) and shoulder and leg yields ( $P<0.01$ ), but poorer meat quality than non-carriers (i.e. higher incidence of PSE meat,  $P<0.001$ ). Although pre-slaughter treatment and halothane genotype did not significantly affect pHu, significantly higher L\*, a\* and b\* values found in the short treatment and Nn individuals indicated paler meat. These results suggest that for improving meat quality and welfare the halothane gene should be removed from the present breeding schemes.

**Keywords:** Pigs; Halothane genotype; Pre-slaughter; Meat quality; Welfare.

## INTRODUCTION

The pre-slaughter handling of pigs has been divided in two major periods: the transit from the production unit to the slaughter plant and lairage at the abattoir. Both transport and lairage have important implications on economic and welfare grounds (Lambooj, 2000). Many factors interact during the pre-slaughter period (i.e. ambient temperature, humidity, stocking densities, transport or lairage duration, management). Along that line, the halothane status of the pig has been thought to play a role in the response of the individual to pre-slaughter handling (Grandin & Dessen, 1998; Fisher, Mellett & Hoffman, 2000). The halothane gene (*n*) has been associated with genetic susceptibility to stress, because stressful conditions such as transportation can trigger Malignant Hyperthermia Syndrome (MHS), especially in homozygous positive pigs (*nn*), ultimately leading to death (Cassens, Marple & Eikelenboom, 1975; Webb, Cardin, Smith & Imlah, 1982). The commercial interest of this gene is associated with the superior lean content and conformation of *nn* pigs compared with pigs free of this mutation (*NN*), due to lower fat and bone proportions and better carcass weight distribution (Webb & Simpson, 1986; Oliver, Gispert & Diestre, 1993). However, *nn* pigs have also been found to show higher mortality rates during transport and lairage, and thus impoverished welfare, and be more prone to produce pale, soft and exudative meat (PSE; McPhee, Daniels, Kramer, Macbeth & Noble, 1994; Murray & Johnson, 1998). The scientific literature on the characteristics of heterozygous pigs (*Nn*) is more controversial. Recent studies indicate that carriers (*Nn*) do have certain advantages compared with halothane negative (*NN*) pigs such as better feed efficiency, greater carcass yield and higher carcass lean contents, but also a higher incidence of PSE (Leach, Ellis, Sutton, McKeith & Wilson, 1996; Larzul et al., 1997; de Smet, Bloemen, van de Voorde, Spincemaille & Berckmans, 1998; Fisher et al., 2000). Nevertheless, other studies conducted by McPhee & Trout (1995) and García-Macias et al. (1996) found that the *n* allele has very little effect on carcass traits. Moreover, mortality rate during transport and lairage has also been found to be higher in *Nn* individuals compared with *NN* (Murray & Johnson, 1998; Fàbrega, Diestre, Carrión, Font & Manteca, 2001).

Since the interaction between genotype, pre-slaughter treatment and environmental conditions is considered important in determining welfare conditions and final quality, recent studies have tried to undertake a broader approach in correlating stress and meat

quality parameters (Barton Gade & Christensen, 1998; Warriss et al., 1998; Gispert et al., 2000). However there are few published reports which relate halothane genotype, carcass and meat quality traits with a complete stress assessment (including blood profile, behaviour and other physiological measurements such as heart rate). Geers et al. (1994) compared the three halothane genotypes in a 2 h transportation and concluded that heart rate and body temperature could be used to assess stress during handling and transport. In their experiments, halothane negative pigs (NN) showed higher cortisol concentrations and emotionality, but lower heart rate. However, they did not measure meat and carcass quality traits. Other investigations have reported the effect of different pre-slaughter conditions on blood profile indices (Warriss, Brown, Edwards & Knowles, 1998), but have not related their results to the halothane status of the pigs.

The aim of this study was to investigate the effect of halothane genotype on carcass and meat quality traits and welfare of Nn and NN pigs subjected to two different pre-slaughter treatments involving different transport and lairage durations.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Animals**

The 194 pigs (156 gilts and 38 castrates) used in this study were obtained from crosses of Landrace×Large White homozygous (NN) sows with two different terminal sires, a Pietrain (Pi) and a Large White×Pietrain (LwPi) boar lines, both heterozygous (Nn). The pigs were reared on a commercial farm. The halothane genotype of the progeny and offspring was determined from a hair or tail sample by PCR amplification and digestion with restriction enzymes as described by Fujii et al. (1991). (The HAL-1843 trademark is licensed from Innovations Foundation, Toronto, Canada). The distribution of the halothane genotype in the studied animals was 123 NN and 71 Nn. All the pigs were weighed the day before slaughter using the Allflex FX11 electronic weighing system.

### **Pre-slaughter conditions**

The experiment was carried out during one week in winter (28 February-2 March 2000). Both gilts and castrates were transported together, but for statistical analysis only the data

obtained from the gilts was used, because the number of castrates was not equally distributed between the different pre-slaughter treatments. These two different pre-slaughter treatments (short and long) were defined according to the length of the transport and the lairage times. The duration of the transportations was 30 min, and 3 h and 15 min for the short and long conditions, respectively, and duration of lairage was 2 h and 12 h, respectively. Animals from both pre-slaughter treatments were slaughtered together at 12:00. The pigs subjected to the long pre-slaughter conditions were loaded the day before slaughter from 19:30 to 20:30 and unloaded at the abattoir at 23:45. In the short treatment the pigs were loaded the day of slaughter from 8:30 to 9:30 and unloaded at the abattoir at 10:00. A total of 83 gilts were delivered in the long treatment distributed between 47 NN (19 Pi sired and 28 LwPi sired pigs) and 36 Nn (13 Pi sired and 23 LwPi sired pigs) gilts. A total of 73 gilts were delivered in the short treatment, distributed between 39 NN (21 Pi sired and 18 LwPi sired pigs) and 34 Nn (23 Pi sired and 11 LwPi sired pigs) individuals. The average outdoor temperature during transport and unloading ranged from 7 to 13 °C and from -1 to 4 °C for the long and short treatments, respectively.

All pigs were subjected to the same on-farm fasting time (12 h) and stocking density during transport ( $0.5 \text{ m}^2/100 \text{ kg pig}$ ). The same lorry was used for the long and short pre-slaughter treatment, but with a different driver. The lorry was a rigid truck with three decks divided in eight compartments each deck ( $1.40 \times 2 \text{ m}$  each compartment) and equipped with natural ventilation and hydraulic lifts for loading and unloading. No electric goads were used, either during transport or lairage. Mixing of unfamiliar animals was avoided during transport, but not at lairage. Stocking density at lairage was  $0.45 \text{ m}^2/100 \text{ kg pig}$ , in pens of 70-80 individuals. The animals were showered after unloading and drinking water was available throughout the lairage period. Electrical stunning was used with an automatic head-to-heart electrical system combined with a chest belt restrainer, with 225-300 V and 2-2.95 A in the head electrodes and 1.5-2 A in the cardiac electrode (MIDAS<sup>®</sup> Stunning System, Stork RMS, Holland). The slaughter line speed was 600 pigs/h.

### **Physiological measurements**

For each treatment, 10 gilts (5 NN and 5 Nn) were selected to record their heart rate and blood indices of stress such as cortisol, creatine phospho-kinase (CPK) and lactate dehydrogenase (LDH). These gilts were transported in the same conditions and lorry as the

rest of animals, but placed individually to prevent damage to the heart rate monitors, dividing each of five compartments of the upper tier into two.

Measurements of heart rate were taken using the Polar system (Polar Vantage NV, Polar Electro, Oy, Finland). This heart rate monitor is composed of a chest band inside which are the conductive electrodes, a sensor/transmitter connected to the chest strap and a wrist monitor storing the information which is later transferred to an electronic reading device. The electrode belt with built-in transmitter was fitted around the thorax of the pig caudal to the forelimbs. The receiver was protected positioned on the belt on the dorsal midline. Medical tape (Omniplast, Hatmann) was fitted around the belt and receiver for protection. The devices were attached to the pigs 2 h before they were loaded, but for the statistical analysis only the 30 min corresponding to the loading procedure were considered. The frequency of heart beats was measured every minute. The arithmetic mean of heart rate values was calculated for every 5 min period. Two gilts in the long treatment and three in the short treatment were discarded because their recordings contained more than 60% missing data. Therefore, the analysis has been performed for 4 NN pigs and 4 Nn in the long treatment and 3 NN and 4 Nn in the short one. Heart rate devices were removed in the lorry when the animals arrived at the abattoir.

Three blood samples were collected for each of the 20 gilts monitored. The first one was taken on the farm before loading, when the animals were restrained prior to attaching the heart rate devices. This sample was considered the basal index of each pig, taking care that the sample was collected within 2-3 min before the beginning of the blood sampling procedure to avoid major influences of the sampling procedure itself. The second sample was collected just after the arrival of the lorry at the abattoir after unloading, and the third one at exsanguination. Samples one and two were collected from the jugular vein using 10 ml sodium heparin-coated evacuated tubes (Vacutainer®). Immediately after blood collection tubes were stored in a cooler at 5-10 °C. Within 30 min blood samples were centrifuged (15 min at 10 xg). Plasma obtained was put into cryotubes of 1 ml and frozen and stored at -20 °C pending analysis. Cortisol concentrations were determined by competitive enzyme-immunoassay (Cortisol ELISA, DRG Diagnostics, EIA-1887) and expressed in ng/ml. Each sample was analysed twice to determine cortisol concentration and the average between both determinations was used for statistical analysis. CPK and LDH were assessed by enzyme kits (COBAS MIRA) at 37 °C, by standard methods

recommended by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). The results were expressed in UI/l.

### Measurements of carcass and meat quality

The carcass weight and its estimated lean content using the Fat-o-Meater grading probe (FOM; Gispert & Diestre, 1994) were recorded for each carcass after slaughter before chilling. The carcasses were in a chilling tunnel for 1 h and 45 min at -7, -3 and 1 °C and after kept in conventional chilling rooms at 1-3 °C for 2 h. The left carcass was commercially cut and the shoulder, leg, loin and belly were weighed at 4 h post-mortem.

The trimmed loins were kept in refrigeration (3-4 °C) for 24 h and re-weighed to determine drip losses. Then, meat quality was assessed by measuring ultimate pH (pHu) in the *Longissimus thoracis* muscle using a hand held Crison micro pH 2001 meter, with a xerolite electrode. The pH meter was calibrated in pH 4 and pH 7 buffers and re-calibrated after every 20 readings. Also at 24 h after slaughter, electrical conductivity with the Pork Quality Meter (PQM-I-INTEK, GmbH, Germany) was measured and the colour of the loins in the transversal cut at the level of the last rib was evaluated subjectively using the Japanese scale (1-5) and objectively determining the Commission Internationale de l'Éclairage (1976) (CIE) values ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) with the Minolta CR200. Loins showing PQM values >4 were classified as PSE, whereas the loins showing pHu values >6.00 were classified as Dark, Firm and Dry (DFD).

### Statistical analysis

The data were analysed statistically by the Statistical Analysis System (SAS system for Windows, v. 8.1, 1999-2000). Differences between the variables were accepted as being significant if  $P < 0.05$ .

The effects of halothane genotype and terminal sire on carcass quality traits were analysed by least-square procedures, using the General Linear Models (GLM). The following model was fitted for main effects (genotype and terminal boar) as well as interactions between main effects, using the carcass weight at slaughter as a covariate:

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + T_j + HT_{ij} + bW_{ijk} + e_{ijk}$$

where  $Y_{ijk}$  =dependent variable;  $\mu$ =overall mean;  $H_i$ = $i$ th halothane genotype effect ( $i$ =Nn or NN);  $T_j$ = $j$ th terminal boar effect ( $j$ =Pi or LwPi);  $HT_{ij}$ =interaction between genotype and terminal sire;  $bW_{ijk}$ =carcass weight;  $e_{ijk}$ =residual error.

The model to analyse the effect of halothane genotype and pre-slaughter treatment on the meat quality traits was the following one:

$$Y_{ij} = \mu + H_i + P_j + HP_{ij} + e_{ij}$$

where  $Y_{ij}$ =dependent variable;  $\mu$ = overall mean;  $H_i$ = $i$ th halothane genotype effect ( $i$ =Nn or NN);  $P_j$ = $j$ th pre-slaughter treatment effect ( $j$ =short or long);  $HP_{ij}$ =interaction between genotype and pre-slaughter treatment;  $e_{ij}$ =residual error.

In a preliminary analysis, terminal sire did not have any significant effect on meat quality traits and, therefore, was not included in the final model. Because none of the interaction terms in the analysis of variance were significant, all models were reduced to main effects only.

A Chi Square test was applied to compare the distribution of the frequencies of PSE carcasses, according to the halothane genotype or pre-slaughter treatment. Following the classification criteria described previously, only 4 carcasses were classified as DFD. Therefore, Chi Square could not be performed in this case.

Physiological measurements of both genotypes were only compared within each pre-slaughter treatment, because of the different individual and environmental conditions or circadian rhythms which could have affected the results.

The effect of halothane genotype on heart rate was analysed by the PROC MIXED procedure with the means of heart rate every five min as a repeated measure. The model was fitted for the autoregressive (1) (AR (1)) covariance structure. Genotype, time and their interaction were included in the model as main effects. The analysis was carried out for the whole period of loading and transport, and, also, for the 30 min corresponding to the loading procedure and the lorry period separately.

In a preliminary statistical analysis, differences in the absolute starting levels (sample 1) of cortisol, LDH and CPK between genotypes were analysed by means of an ANOVA test (cortisol) and a Mann-Whitney test (LDH and CPK). No significant differences were observed and, then, cortisol, LDH and CPK were analysed estimating the ratio between the

value obtained in sample 2 (after transport) and sample 3 (after exsanguination) and the baseline level before transport (sample 1). The ratios obtained from NN and Nn individuals were compared using a Student's t-test. Ratio 1 (R1, increase after transport) and ratio 2 (R2, increase after lairage and slaughter) were compared also using a Paired t-test, within pre-slaughter treatment.

## RESULTS

### Physiological measurements

Mean starting levels and standard errors of cortisol (ng/ml) were 41.38 (S.E.=6.73) and 55.88 (S.E.=10.61) in the short treatment and 40.41 (S.E.=9.13) and 29.39 (S.E.=8.47) in the long treatment, for NN and Nn individuals, respectively. Mean starting levels of LDH (UI/l) were 982.40 (S.E.=73.67) and 961.80 (S.E.=97.04) in the short treatment and 770.80 (S.E.=90.88) and 962.6 (S.E.=117.15) in the long treatment, for NN and Nn individuals, respectively. Mean starting levels and standard errors of CPK (UI/l) were 2931.80 (S.E.=660.13) and 5364.0 (S.E.=976.06) in the short treatment and 3117.00 (S.E.=425.35) and 4866.00 (S.E.=951.41) in the long treatment, for NN and Nn individuals, respectively. No significant differences between genotypes were observed in any of these parameters.

Means and standard errors of cortisol, LDH and CPK increase after transport (R1) and after lairage (R2) from the two halothane genotypes within each pre-slaughter treatments are given in Table 1.

In the short treatment, halothane genotype affected significantly LDH and CPK increase. LDH increase after exsanguination was higher in Nn pigs compared with NN ( $P<0.01$ ). There was also a significant difference between LDH R1 and R2 in NN individuals, the increase after transport being higher than the increase after exsanguination ( $P<0.05$ ). In relation to CPK concentrations, the increase after transport was significantly higher in NN individuals compared with Nn ( $P<0.05$ ), but higher in Nn pigs after exsanguination ( $P<0.05$ ). Halothane NN pigs experienced a significantly higher increase of CPK after transport compared with their increase after exsanguination ( $P<0.05$ ). However, no differences were observed in cortisol increase in the short pre-slaughter treatment. In the long treatment, cortisol increased significantly more in Nn pigs NN both after transport



and after exsanguination ( $P<0.05$ ). LDH and CPK increase after either transport or exsanguination were not different between genotypes.

**Table 1.- Means and standard errors of cortisol, LDH and CPK increase after transport (R1) and exsanguination (R2) in the different halothane genotypes compared within pre-slaughter treatments**

Blood index	Ratio	Short Treatment			Long treatment		
		Halothane status		<i>P</i>	Halothane status		<i>P</i>
		NN	Nn		NN	Nn	
Cortisol	R1	2.9 (0.64)	2.0 (0.13)	NS	1.2 (0.28)	3.2 (0.73)	*
	R2	2.2 (0.19)	2.4 (0.45)	NS	1.9 (0.67)	3.2 (0.29)	*
LDH	R1	2.2 (0.36) <sup>a</sup>	1.8 (0.23)	NS	2.5 (0.51)	1.6 (0.4)	NS
	R2	1.1 (0.15) <sup>b</sup>	1.9 (0.15)	**	1.3 (0.36)	3.6 (2.16)	NS
CPK	R1	3.2 (0.49) <sup>a</sup>	1.7 (0.11)	*	1.9 (0.41)	1.7 (0.36)	NS
	R2	0.9 (0.19) <sup>b</sup>	2.7 (0.79)	*	2.1 (0.39)	5.2 (3.56)	NS

*P* refers to differences between halothane genotypes within each pre-slaughter treatment (\*\*  $P<0.01$ ; \*  $P<0.05$ .)

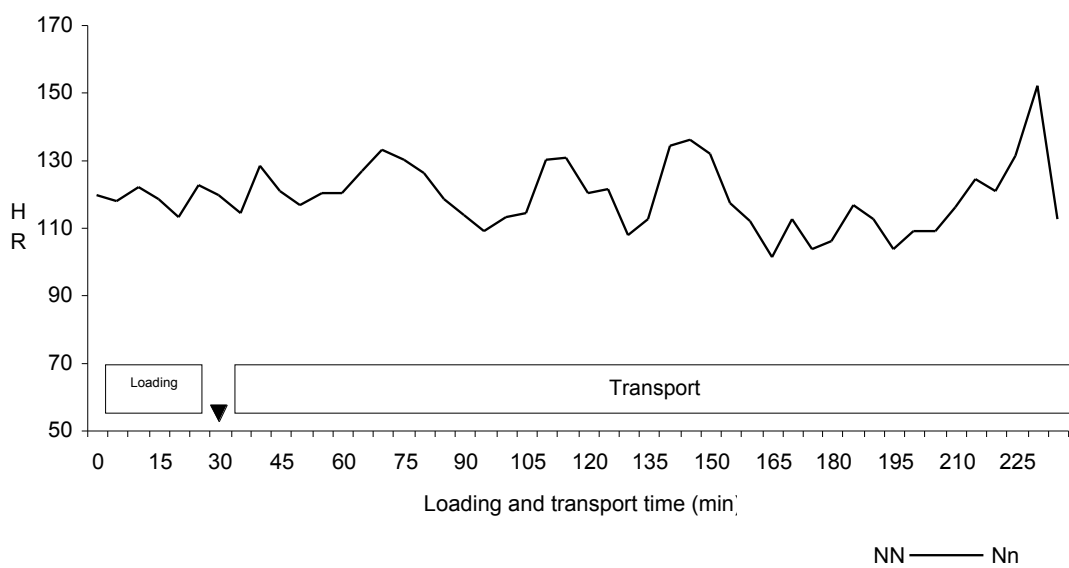
<sup>a,b</sup> Different superscripts indicate a significant difference between ratios within a genotype ( $P<0.05$ ).

In Fig.1, the changes in heart rate of both genotypes (NN and Nn) in the long and short treatment (a and b, respectively) are shown. Halothane genotype did not affect heart rate significantly either during loading, transportation or in both combined in any of the two pre-slaughter treatments studied. Mean heart rates during the short treatment were 137.4 (S.E.=3.39) and 130.3 (S.E.=3.38), and, during the long treatment, 121.3 (S.E.=2.46) and 119.6 (S.E.=2.43), for NN and Nn pigs, respectively. In the short treatment, the interaction between genotype and time was highly significant ( $P<0.001$ ) both in the combined loading and transport analysis and during the loading period. Mean heart rates for NN pigs were higher during the loading compared with Nn pigs (150.43 vs. 136.5), but were similar during the transport time (122.8 vs. 123.4), as shown in Figure 1 b. In the long treatment, there was a significant effect of time on heart rate during transport ( $P<0.05$ ). As shown in

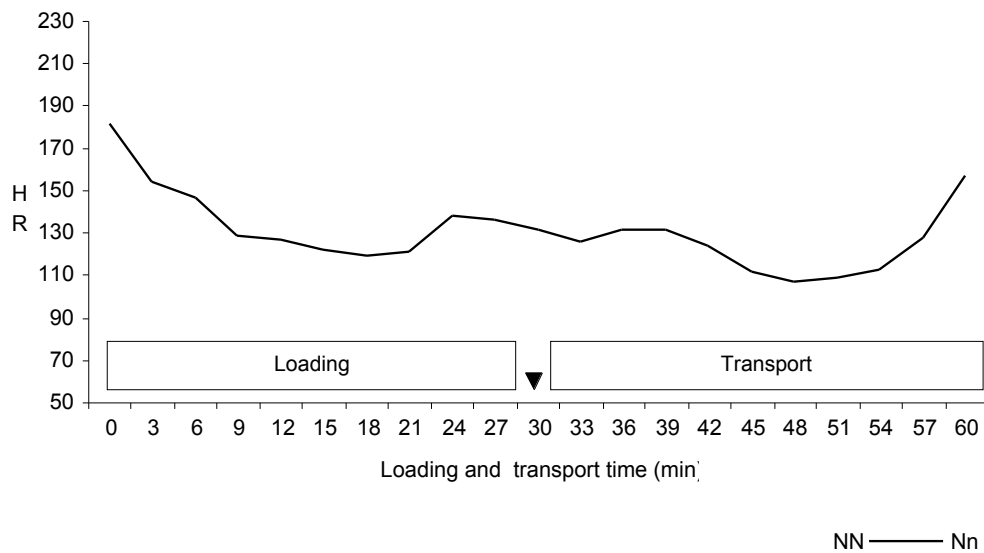
Figure 1 a, during transportation both halothane genotypes experienced an increase in their heart rates in the period between 90 and 150 min after the beginning of transport.

**Figure 1. Means of heart rate during loading and transport of the two halothane genotypes in the long treatment (a) and short treatment (b)**

a)



b)



## Carcass and meat quality

As shown in Table 2, there was a significant effect of terminal sire on all the parameters of carcass quality, except for shoulder proportion. The progeny of the LwPi sire line had a significantly higher live weight ( $P<0.001$ ), carcass weight ( $P<0.001$ ), backfat thickness ( $P<0.001$ ) and belly yield ( $P<0.001$ ) compared with Pi progeny. Conversely, Pi descendants had a significantly higher killing out ( $P<0.05$ ), loin depth ( $P<0.001$ ), lower backfat thickness ( $P<0.001$ ) and, consequently, more estimated lean content (608.5 vs. 586.9 g/kg) compared with LwPi pigs. Loin and leg proportions as well were significantly higher ( $P<0.001$ ) in Pi sired pigs.

**Table 2. Least Square Means and standard errors of carcass quality traits in the different terminal sires and halothane genotypes**

	Terminal Sire			Halothane genotype		
	LwPi	Pi	<i>P</i>	NN	Nn	<i>P</i>
Live weight (kg)	105.4 (1.23)	94.9 (1.22)	***	100.6 (1.14)	99.7 (1.28)	NS
Carcass weight (kg)	80.2 (0.97)	72.3 (0.98)	***	76.4 (0.91)	76.2 (1.01)	NS
Killing out (g/kg)	757.5 (0.20)	764.9 (0.21)	*	758.8 (1.81)	763.6 (2.01)	NS
Last rib backfat (mm)	12.1 (0.26)	10.6 (0.26)	***	11.5 (0.23)	11.1 (0.25)	NS
_ last rib backfat (mm)	13.4 (0.26)	11.8 (0.26)	***	12.9 (0.23)	12.3 (0.26)	*
_ loin depth (mm)	56.8 (0.48)	60.6 (0.5)	***	57.9 (0.43)	59.6 (0.48)	**
Estimated lean content (g/kg)	586.9 (2.73)	608.5 (4.90)	***	592.7 (2.40)	602.7 (2.71)	**
Carcass Weight Distribution						
Loin (g/kg)	41.6 (0.39)	44.0 (0.38)	***	42.9 (0.34)	42.9 (0.39)	NS
Leg (g/kg)	146.4 (0.66)	151.0 (0.69)	***	147.1 (0.61)	150.3 (0.68)	***
Belly (g/kg)	34.5 (0.63)	30.2 (0.65)	***	31.9 (5.76)	32.8 (6.49)	NS
Shoulder (g/kg)	61.5 (0.44)	62.1 (0.45)	NS	60.8 (0.41)	62.8 (0.45)	**

\*  $P<0.05$ ; \*\*  $P<0.01$ ; \*\*\*  $P<0.001$

Halothane genotype had a significant effect on backfat thickness measured at the level of the 3-4 last rib, loin depth, estimated lean content, leg and shoulder proportions.

Halothane Nn individuals had a lower backfat thickness ( $P<0.05$ ) and higher loin depth ( $P<0.01$ ) and, consequently, a higher estimated lean content (602.7 vs. 592.7 g/kg,  $P<0.01$ ) compared with NN pigs. Leg ( $P<0.001$ ) and shoulder ( $P<0.01$ ) proportions were also significantly higher for halothane carriers.

Pre-slaughter treatment only significantly affected ( $P<0.05$ ) the Minolta measurements of colour (Table 3). The long treatment resulted in darker loins than the short one ( $L^*$  49.5 vs. 47.8, respectively). Halothane genotype had a significant effect on all meat quality parameters, except for pHu. Halothane carriers had a higher PQM value than NN pigs ( $P<0.001$ ) and, therefore, PSE incidence was significantly higher ( $P<0.001$ ) for halothane carriers (32.8 vs. 9.5%). Meat colour was paler for Nn pigs compared with non-carriers, both according to the Minolta measurements and subjective colour evaluation ( $P<0.001$ ). Loin drip loss was also significantly higher for Nn than for NN pigs (15.5 vs. 11.0 g/kg).

**Table 3.- Least Square Means and standard errors of meat quality traits in the different pre-slaughter treatments and halothane genotypes**

	Pre-slaughter treatment			Halothane genotype		
	Short	Long	<i>P</i>	NN	Nn	<i>P</i>
pH <sub>24</sub> LT	5.6 (0.02)	5.7 (0.02)	NS	5.8 (0.02)	5.7 (0.03)	NS
PQM <sub>24</sub> LT	5.3 (0.35)	4.9 (0.35)	NS	3.1 (0.32)	7.2 (0.36)	***
Minolta L *	49.5 (0.48)	47.8 (0.56)	*	46.9 (0.45)	50.4 (0.52)	***
Minolta a *	7.9 (0.17)	7.3 (0.17)	*	7.5 (0.15)	8.4 (0.24)	***
Minolta b *	1.8 (0.14)	1.4 (0.14)	*	1.3 (0.13)	1.9 (0.15)	**
Subjective colour	2.6 (0.07)	2.6 (0.08)	NS	2.7 (0.07)	2.4 (0.07)	***
Loin drip loss (g/kg)	12.9 (0.62)	13.5 (0.64)	NS	11.0 (0.59)	15.5 (0.67)	***
PSE (%)	21.2	21.2	NS	9.5	32.8	***

\*  $P<0.05$ ; \*\*  $P<0.01$ ; \*\*\*  $P<0.001$

## DISCUSSION

### Physiological measurements

A direct comparison between pre-slaughter treatments is not possible, because of the effect of environmental conditions (i.e. ambient temperature on body temperature) on the parameters studied, of circadian rhythm on cortisol levels or the effect of individual variation in their response to aversive stimuli. Stress assessment using blood indices raises some problems in the interpretation of data, because there is relatively little information about the exact time responses to stress and the half-lives of these substances in the blood. Moreover, these parameters have been said to vary with the intensity of the stress or the time of day of stressor application (Ruis et al., 1997). However, the most frequently monitored physiological response to acute stress is increased secretion of glucocorticosteroids. Based on the results shown in Table 1, halothane carriers suffered a significantly higher increase of cortisol both after transport and exsanguination in the long treatment. These findings are in agreement with the generalized idea that the halothane gene is linked to a higher susceptibility to stress. As argued by Geers et al. (1994), these results may reflect a different appraisal or reaction to stress between genetic lines.

LDH and CPK are commonly used as indicators of muscle damage, even though they can be released into the blood under other circumstances such as vigorous exercise. The results obtained in the present study do not allow us to draw clear conclusions about the effect of the gene on these parameters, since halothane carriers showed a higher increase of LDH and CPK after exsanguination in the short treatment, but the increase was higher for NN pigs after transport. However, there are two points which may be discussed. First, the fact that NN individuals experienced a significant decrease of LDH and CPK ratios after exsanguination in relation to the ratio after transport in the short treatment, whereas this ratio tended to increase for Nn pigs. Provided circulating levels of these substances respond and recover quite rapidly (Kramer & Hoffman, 1997), the sample obtained after exsanguination may measure mainly the physical exertion suffered in the race system immediately before stunning and to some extent the effect of lairage. Thus, the results related to the sample obtained after exsanguination, may suggest either that pre-slaughter handling at the abattoir may affect both genotypes differently in terms of physical stress or that recovery associated with lairage rest may be more important amongst halothane free

pigs than halothane carriers. Secondly, it is also important to note that halothane carriers showed a wider variation in their individual response than halothane free gilts, especially regarding the LDH and CPK increase in the long treatment after exsanguinations (R2). Consistent individual differences in their behavioural and physiological responsiveness to aversive situations have been observed in pigs (Lawrence, Terlouw & Illius, 1991; von Borell and Ladewig, 1992). Further research would be required to elucidate whether halothane gene is related to more individual variability in the stress response.

As for heart rate, halothane genotype did not show a significant effect. This is in agreement with the findings reported by Geers et al. (1994), who found higher heart rate and lower body temperature means for nn pigs compared with NN and Nn after transport, but did not find significant differences between heterozygous and dominant homozygous. These authors suggested that handling and transport had a greater effect on halothane nn pigs, even though halothane NN showed a higher emotional response during loading. Our results do not provide evidence to support the idea that the n allele in the heterozygous individuals has a significant effect on heart rate. However, the continuous recording of data showed that loading imposed more stress than transport itself, as reflected in the higher mean heart rates recorded in this period. This ties in with the assumption that loading and unloading represent the highest stress during transport, which may be attributable to climbing and descending the ramp or being handled (Geverink et al., 1998). In the repeated measures analysis, the fact that the factor time showed in the long transport a significant effect indicates that the actual procedure of transportation also generates stressful stimuli, as described previously (Villé et al., 1993; Geverink et al., 1998). Unfortunately, not enough data on driving conditions was recorded to explain the increase in heart rate observed in the long transportation in the period between 90 and 150 min. However, rough journeys have been found to be more stressful to the animals (Bradshaw, Hall & Broom, 1996; Ruiz-de-la-Torre et al., 2001), and this peak could be related to rougher road conditions. The significant interaction between time and genotype in the short treatment may be explained by the fact that halothane NN pigs had higher heart rate during loading but they decreased more rapidly with time, compared with Nn pigs which presented steadier heart rates.

## Carcass and meat quality

The higher lean content for Nn individuals obtained compared with NN is in agreement with previous findings (Leach et al., 1996; Larzul et al., 1997; de Smet et al., 1998). Other studies (McPhee & Trout, 1995; de Smet, Pauwels, de Bie, Demeyer, Calewier & Eeckhout, 1996; García-Macías et al., 1996) found no significant differences between NN and Nn individuals in relation to lean content. Furthermore, O'Brien, Ball, and MacLennan (1994) suggested that the increase in lean yield associated with heterozygosity could be breed dependent. In the present study, breed effects on carcass composition surpassed those of halothane gene, but no significant interaction was found between halothane status and breed in contrast with the findings of O'Brien et al. (1994). Halothane genotype also affected the cut distribution of the carcass, providing a higher yield, expressed as a percentage of total carcass weight, of two priced primal cuts (leg and shoulder). Similar trends have been reported by other investigations (Leach et al., 1996; Fisher et al., 2000), even though the present study did not aim to determine cut composition and, therefore, straightforward comparisons are not possible. However, the scientific literature has conflicting ideas to explain the higher yield associated with halothane gene in some cuts, relating it either to a better bone to lean ratio (Aalhus, Jones, Robertson, Tong & Sather, 1991; Fisher et al., 2000) or a lower content of soft tissues (Leach et al., 1996).

In the present study, halothane genotype was shown to have an important effect on meat quality traits producing, as expected, paler meat with higher PQM values and loin drip losses. A thorough review of the role of halothane as a major gene that affects pig meat quality is given by Sellier & Monin (1994) and the frequently found inverse relationship between carcass lean content and meat quality related to the gene is well documented (Oliver et al., 1993; de Smet et al., 1998; Fisher et al., 2000). As reported previously, the mutant (n) allele had no significant effect on ultimate muscle pH (García-Macías et al., 1996; Larzul et al., 1997; Gispert et al., 2000). Larzul et al. (1997) attributed this lack of difference to a similar glycolytic potential in the two genotypes. However, in the present study, PSE incidence based on PQM values, was clearly influenced by halothane status and this finding was in agreement with the differences observed in meat colour evaluation. The higher  $L^*$  (reflectance) value found in Nn pigs is in accordance with previous findings (García-Macías et al., 1996; Leach et al., 1996; Fisher et al., 2000), confirming the increase in light scattering associated with PSE meat, which is due to denaturation of the

sarcoplasmic proteins. Thus, the higher reflectance is perceived by the observer as increased paleness, which in the present study was confirmed by significantly lower values in the subjective evaluation according to the Japanese scale. The higher drip loss found in Nn genotype may be the cause of the  $a^*$  and  $b^*$  differences between genotypes, since moisture being lost may increase the concentration of muscle pigment (Ahmed, Miller, Lyon, Vaughters & Reagan, 1990). Even though water holding capacity and colour have been said to be the results of different pre-rigor biological phenomena (de Smet et al., 1996), in the present experiment they evolved alongside and were clearly affected by halothane status.

Under our conditions, breed effects were more important with respect to carcass composition than halothane status, but had no influence on meat quality traits compared with the important effects shown by halothane genotype. Pi sired pigs had a lower live and carcass weights, but their killing out percentages, estimated lean contents and weight of two primal cuts (leg and loin) were higher. No significant terminal sire $\times$ halothane genotype interaction was apparent in this study, as also reported previously by de Smet et al. (1995) when working with Belgian Landrace and Pietrain $\times$ Belgian Landrace crosses. This lack of interaction between halothane genotype and terminal sire combined with the fact that the terminal sire effects were of minor importance to meat quality, suggests that some of the advantages of the halothane gene in carcass traits (i.e. higher leanness) could be gained by improved terminal sires free of the gene. Sellier (1988) concluded in his review on the antagonistic relationship between meat quantity and meat quality, that correlations of meat quality traits with the carcass conformation score were higher than those with lean content, irrespective of the halothane status. Thus, as argued by de Smet et al. (1995), selection for improved muscle shape may be more detrimental to meat quality than selection for improved leanness. Currently, there is no national payment system in the European meat industry against poor meat quality, even though PSE pork constitutes an important problem, especially in countries with a high frequency of the halothane gene in slaughter pigs (Gispert et al., 2000). As confirmed in this study, the halothane gene seems to play a major role in PSE incidence. In view of this, new breeding schemes based on the combination of improved terminal sires and the removal of the gene would reduce the incidence of downgraded or rejected meat without compromising carcass quality.

When interpreting the effects of pre-slaughter treatment, the potential interactions between different factors have to be taken into account. Long transport and lairage times



are considered undesirable because of the additive stressful problems of long food deprivation, muscle glycogen depletion and skin blemishes. In this study, long pre-slaughter treatment was expected to have an effect on meat quality, increasing the percentage of DFD carcasses. Even though the long treatment produced darker meat evaluated by  $L^*$  value of the Minolta system, only 4 carcasses were classified as DFD according to pHu and there were no differences between treatments. Murray, Robertson, Nattress & Fortin (2001) also found little impact of long feed withdrawal (about 20 h) on pH ultimate and DFD incidence. Even though differences in pHu were not significant, the higher  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values found in both, the short pre-slaughter treatment and Nn individuals may be related to a higher proportion of myoglobin in the oxygenated form on the loin surface, which has been recently associated with lower pHu (Juncher, Rønn, Mortensen, Henckel, Karlsson, Skibsted & Bertelsen, 2001). Moreover, the interaction between genotype and pre-slaughter treatment was not significant for meat quality traits, including PSE incidence. De Smet et al. (1996) found that the beneficial effect of lairage on the reduction of PSE-related traits was more pronounced in nn pigs, but the effect on NN and Nn pigs was small. However, in this study the short lairage consisted of 2 hours, which has been recommended as allowing sufficient time to recover from previous stresses (Warriss et al., 1998), whereas de Smet et al. (1996) laired the pigs for <1 h. Thus, the lack of interaction between pre-slaughter treatment and halothane genotype in the present study may be the result of the animals having recovered after the 2 h lairage.

## **CONCLUSIONS**

This investigation confirms that Nn pigs have certain advantages, such as a higher lean percentage or yield of some primal cuts, as compared with NN pigs. However, these effects were linked to a higher incidence of pale, soft and exudative meat. Moreover, terminal sire advantageous effects on carcass traits surpassed those shown by halothane genotype without the disadvantages of PSE meat. This suggests that new breeding strategies using improved halothane-free terminal boars could bring similar benefits in terms of muscular development or carcass quality without compromising meat quality. Under the present conditions, pre-slaughter treatment had a small effect on meat quality traits compared with halothane genotype. Some of the physiological measures of stress indicated that halothane carriers had a higher response to some stressful conditions such as

handling prior to slaughter. The higher increases of cortisol and individual variability of Nn pigs may suggest different physiological and behavioural responses to aversive situations, which could compromise the welfare of these individuals. This aspect warrants further research to elucidate clearly the welfare implications associated with the n allele in heterozygous pigs.

## ACKNOWLEDGMENTS

Thanks are due to IRTA and UAB technicians for technical assistance during the experiments. This study was funded by the Spanish Ministry of Science and Technology (Project 2FD-97-0022-CO3).

## REFERENCES

- Aalhus, J.L., Jones, S.D., Robertson, W.M., Tong, A.K.W., & Sather, A.P.** (1991). Growth characteristics and carcass composition of pigs with known genotypes for stress susceptibility over a weight range of 70 to 120 Kg. *Animal Production*, *52*, 347-354.
- Ahmed, P.O., Miller, M.F., Lyon, C.E., Vaughters, H.M., & Reagan, J.O.** (1990). Physical and sensory characteristics of low-fat fresh pork sausages processed with various levels of added water. *Journal of Food Science*, *55*, 625-628.
- Barton-Gade, P., & Christensen, L.** (1998). Effect of different stocking densities during transport on welfare and meat quality in Danish slaughter pigs. *Meat Science*, *48*, 237-247.
- Bradshaw, R.H., Hall, S.J., & Broom, D.M.** (1996). Behavioural and cortisol response of pigs and sheep during transport. *Veterinary record*, *138*, 233-234.
- Cassens, R.G., Marple, D.N., & Eikelenboom, G.** (1975). Animal physiology and meat quality. *Advances in food research*, *21*, 71-155.
- de Smet, S., Pauwels, H., Versaeke, I., Demeyer, D., de Bie, S., Eeckhout, W., & Casteels, M.** (1995). Meat and carcass quality of heavy muscled Belgian slaughter pigs as influenced by halothane sensitivity and breed. *Animal Science*, *61*, 109-114.
- de Smet, S.M., Pauwels, H., de Bie, S., Demeyer, D.I., Calewier, J., & Eeckhout, W.** (1996). Effect of the halothane gene, breed, feed withdrawal and lairage on pork quality of Belgian Slaughter pigs. *Journal of Animal Science*, *74*, 1854-1863.

- de Smet, S., Bloemen, H., van de Voorde, G., Spicenmalle, G., & Berckmans, D.** (1998). Meat and carcass quality in two pig lines of different stress-susceptibility genotype and their crosses. *Animal Science*, *66*, 441-447.
- Fàbrega, E., Diestre, A., Carrión, D., Font, J., & Manteca, X.** (2001). Impact of halothane gene on pre-slaughter mortality in two Spanish pig commercial abattoirs. *Animal Welfare* (in press).
- Fisher, P., Mellet, F.D., & Hoffman, L.C.** (2000). Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. *Meat science*, *54*, 97-105.
- Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., de Leon, S., Khanna, V. K., Weiler, J. E., O'Brien, P. J., & McClennan, D. H.** (1991). Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, *253*, 448-451.
- García-Macías, J.A., Gispert, M., Oliver, M.A., Diestre, A., Alonso, P., Muñoz-Luna, A., Siggins, K., & Cuthbert-Heavens, D.** (1996). The effects of cross, slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat and fat quality in pig carcasses. *Animal Science*, *63*, 487-496.
- Geers, R., Bleus, E., Van Schie, T., Villé, H., Gerard, H., Janssens, S., Nackaerts, G., Decuyper, E., & Jourquin, J.** (1994). Transport of pigs different with respect to halothane gene : stress assessment. *Journal of Animal Science*, *72*, 2552-2558.
- Geverink, N.A., Bühnemann, A., van de Burgwal, J.A., Lambooij, E., Blokhuis, H.J., & Wiegant, V.M.** (1998). Responses of slaughter pigs to transport and lairage sounds. *Physiology and Behavior*, *63*, 667-673.
- Gispert, M., & Diestre, A.** (1994). Classement des carcasses de porc en Espagne : un pas vers l'harmonisation communautaire. *Techni-Porc*, vol.17, pp. 29-32.
- Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M.A., Guàrdia, M.D., Coll, C., Signes, K., Harvey, K., & Diestre, A.** (2000). A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Science*, *55*, 97-106.
- Grandin, T., & Deesing, M.J.** (1998). Genetics and behavior during handling, restraint, and herding. In: T. Grandin (Ed.), *Genetics and the behavior of domestic animals* (pp.113-145). San Diego, USA : Academic Press.
- Juncher, D., Rønn, B., Mortensen, E. T., Henckel, P., Karlsson, A., Skibsted, L. H. & Bertelsen, G.** (2001). Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork. *Meat Science*, *58*, 347-357.

- Kramer, J.W., & Hoffman, W. E.** (1997). Clinical enzymology. In J.J. Kaneko, J.W. Harvey & M.L.Bruss, *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5<sup>th</sup> edition (pp.534-565). Academic Press, San Diego, US.
- Lambooi, E.** (2000). Transport of pigs. In: T.Grandin (Ed.) *Livestock handling and transport* (pp.275-297). Wallingford, UK: CAB International.
- Larzul, C., le Roy, P., Guéblez, R., Talmant, A., Gogué, J., Sellier, P., & Monin, G.** (1997). Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 kg or 125 kg live weight. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 114, 309-320.
- Lawrence, A.B., Terlouw, E.M.C., & Illius, A.W.** (1991). Analysis of temperament in pigs exposed to non-social and social challenges. *Applied Animal Behaviour Science*, 30, 73-86
- Leach, M., Ellis, M., Sutton, D.S., Mckeith, F.K., & Wilson, E.R.** (1996). The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. *Journal of Animal Science*, 74, 934-943.
- McPhee, C.P., Daniels, L.J., Kramer, H.L., Macbeth, G.M., & Noble, J.W.** (1994). The effects of selection for lean growth and halothane allele on growth performance and mortality of pigs in a tropical environment. *Livestock Production Science*, 38, 117-123.
- McPhee, C.P., & Trout, G.R.** (1995). The effects of selection for lean growth and the halothane gene on carcass and meat quality of pigs transported long and short distances to slaughter. *Livestock Production Science*, 42, 55-62.
- Murray, A.C., & Johnson, C.P.** (1998). Impact of halothane gene on muscle quality and pre-slaughter deaths in Western Canadian pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 78, 543-548.
- Murray, A., Robertson, W., Nattress, F., & Fortin, A.** (2001). Effect of pre-slaughter overnight feed withdrawal on pig and carcass muscle quality. *Canadian Journal of Animal Science*, 81, 89-97.
- O'Brien, P.J, Ball, R.O., & MacLennan, D.H.** (1994). Effects of heterozygosity for the mutation causing porcine stress syndrome on carcass quality and live performance characteristics. In P.Poomvises and I.Ingkanium (eds.) *Proceedings of the 13<sup>th</sup> IPVS Congress, Bangkok, Thailand*, (pp.481).
- Oliver, M.A., Gispert, M., & Diestre, A.** (1993). The effects of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Science*, 35, 105-118.

- Ruis, M.A.W., te Brake, J.H.P., Engel, B., Ekkel, E.D., Buist, W.G., Blokhuis, H.J., & Koolhaas, J.M.** (1997). The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: effects of age, gender and stress. *Physiology and behavior*, *62*, 623-630.
- Ruiz-de-la-Torre, J.L., Velarde, A., Diestre, A., Gispert, M., Hall, S.J.G., Broom, D.M., & Manteca, X.** (2001). Effects of vehicle movements during transport on the stress response and meat quality of sheep. *Veterinary Record*, *148*, 227-229.
- SAS Institute** (1999-2000). SAS for windows release 8e. Cary, NC, USA: SAS Institute.
- Sellier, P.** (1988). Aspects génétiques des qualités technologiques et organoleptiques de la viande chez le porc. *Journées Recherche Porcine en France*, *20*, 243-248.
- Sellier, P., & Monin, G.** (1994). Genetics of pig meat quality: a review. *Journal of Muscle Foods*, *5*, 187-219.
- Villé, H., Bertels, S., Geers, R., Janssens, S., Goedseels, V., Parduyns, G., Bael, J., van Goosens, K., Bosschaerts, L., Ley, J., & Heylen, L.** (1993). Electrocardiogram parameters of piglets during housing, handling and transport. *Animal Production*, *56*, 211-216.
- von Borell, E., & Ladewig, J.** (1992). Relationship between behaviour and adrenocortical response pattern in domestic pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, *34*, 195-206.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., Barton-Gade, P., Santos, C., Nanni Costa, L., Lambooij, E., & Geers, R.** (1998). An analysis of data relating to pig carcass quality and indices of stress collected in the European Union. *Meat Science*, *49*, 137-144.
- Warriss, P.D., Brown, S.N., Edwards, J. E., & Knowles, T.G.** (1998). Effect of lairage time on level of stress and meat quality. *Animal Science*, *66*, 255-261.
- Webb, A. J., Cardin, A. E., Smith, C., & Imlah, P.** (1982). Porcine Stress Syndrome in pig breeding. In: *Proceedings of the Second World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* (pp 588-608), Madrid, Spain
- Webb, A.J., & Simpson, S.P.** (1986). Performance of British Landrace pigs selected for high and low incidence of halothane sensitivity 2. Growth and carcass traits. *Animal Production*, *43*, 493- 503.