• zakres kriokonserwacji materiału biologicznego (ochrona *ex-situ*),
• warunki uczestnictwa w programie,
• podmioty uczestniczące w realizacji programu.

Badania naukowe. Objęcie ochroną tak różnych populacji zwierząt gospodarskich pozwoliło na prowadzenie szeregu intersujących projektów i badań, które przyczyniły się zarówno do ich lepszego poznania, jak i wykorzystania ich unikalnych właściwości.

Największym realizowanym w ramach Instytutu Zootechniki projektem jest Bio-strateg (2016-2019), który przyczynił się do olbrzymiej popularyzacji produktów niszowych pochodzących od ras rodzimych, zwłaszcza bydła, owiec i świń. W ramach tego projektu współpracuje szereg jednostek naukowych, a także producentów i lokalnych wytwórców. Projekt ma za zadanie określenie opłacalności chowu zwierząt ras zachowawczych w gospodarstwach rodzinnych oraz wykorzystanie tych ras w gospodarstwach niskonakładowych do pozyskiwania wysokiej jakości produktów lokalnych, a także ich wykorzystanie w ochronie i właściwym zagospodarowaniu siedlisk cennych przyrodniczo. Inny segment zagadnień poświęcony jest wykorzystaniu innowacyjnych i wysokowydajnych technik analiz genomu do charakterystyki, ochrony bioróżnorodności oraz identyfikacji podłoża genetycznego istotnych cech funkcjonalnych i produkcyjnych ras zachowawczych, podobnie jak w selekcji i eliminacji zwierząt obarczonych chorobami o podłożu genetycznym; opracowywane są nowe metody konserwacji oraz kryteriów selekcji dawców izolowanego materiału genetycznego do wykorzystania w programach zachowania bioróżnorodności zwierząt. Należy podkreślić, że projekt ten został wybrany jako czwarty najlepszy spośród ponad setki ocenianych przez NCBiR w roku 2016.

Znaczenie bioróżnorodności zwierząt gospodarskich wobec zmian klimatycznych

Wbrew mniemaniu niektórych osób, zasoby genetyczne nie są tylko odbiciem naszej przeszłości i nie pełnią funkcji przedmiotów zgromadzonych w skansenie. Ich ochrona nie jest również powodowana nostalgią za przeszłością. Ktoś słusznie stwierdził, że nie znając do końca właściwości żywych organizmów zbyt wiele możemy stracić, pozwalając na ich zginięcie. Obecne badania w obszarze szeroko pojętej genetyki i biotechnologii pokazują słuszność tej tezy i coraz większą uwagę przykładamy do obserwacji tego, co natura wypracowała przez setki, tysiące, a nawet miliony lat. Nie dziwi też fakt, że wobec coraz wyraźniej widocznych zmian klimatycznych należy z większą pokorą patrzeć na rasy o dużych zdolnościach przystosowawczych, łatwo akceptujące trudne warunki środowiskowe i zdolne do przekazania tych cech, zwłaszcza wobec przewidywanego przyrostu liczby ludności. Ważne jest także dążenie do obniżenia emisji gazów cieplarnianych (GHG) poprzez stworzenie nowoczesnych systemów obiegu materii i pierwiastków, gdzie substancje będące odpadami jednego procesu stanowią materiał wyjściowy dla następnego. Ten fakt zauważony został przez FAO, a obecnie zaowocował szeregiem projektów, pozwalających na wykorzystanie lokalnych ras w procesach obiegu materii, tak aby optymalnie wykorzystać przetwarzaną materię i energię [1, 12].

Literatura: 1. Cardinale B.J., Duffy E., Gonzalez A., Hooper D.U., Perrings C., Venail P., Narwani A., Mace G.M., Tilman D., Wardle D.A., Kinzig A.P. Daily G.C., Loreau M., Grace J.B., Larigauderie A., Srivastava D., Naeem S., 2012 – Biodiversity loss and its impact on humanity. Nature 486 (7401), 59-67. **2. CBD**, 1992 – Convention on biological diversity (https://www.cbd.int/convention/text/). **3. CBDK** (Centralna Baza Danych Koniowatych) – https://www.cbdk.pl/liczba-koniowatych-2017/#more-613 (dostęp 25.09.2018). **4. EFABIS** – http://efabis.izoo.krakow.pl (dostęp 25.09.2018). **5. FAO**, 1999 – The Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources. Executive Brief. FAO, Rome, Italy. **6. FAO**, 2007 – Global Plan of Action for Animal Genetic Resources and The Interlaken Declaration adopted by the International Technical Conference on Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Interlaken, Switzerland, 3-7 September 2007. Rome (www.fao.org/3/a-a1404e.pdf). **7. FAO**, 2007 – The 1st State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture (http://www.fao.org/3/a-a1260e.pdf). **8. FAO**, 2011 – Developing the institutional framework for the management of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 6. Rome. **9. FAO**, 2014 – Status and Trends of Animal Genetic Resources. CGRFA/WG-AnGR-8/14/Inf.4. **10 FAO**, 2015 – The 2nd State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture (http://www.fao.org/3/a-i4787e.pdf). **11. FAO**., 2015 – Principles for the assessment of livestock impacts on biodiversity (www.fao.org/3/a-av154e.pdf) **12. FAO**, 2017 – Livestock solutions for climate change (http://www.fao.org/3/a-i8098e.pdf) **13. GUS**, 2017 – Rocznik Statystyczny Rolnictwa. ZWS, Warszawa. **14. Konopiński J.**, 2014 – Trendy zmian głównych kierunków produkcji zwierzęcej w Polsce w okresie członkostwa w UE. Agrobiznes 2014. Rozwój agrobiznesu w okresie 10 lat przynależności Polski do Unii Europejskiej. Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu nr 361, 117-129.

Przyczyny powstawania wady mięsa typu PSE i ich wpływ na jakość wieprzowiny

Kamila P. Stepanow[1], Paweł Urbański[1], Halina Sieczkowska[2], Mariusz Pierzchała[1]

[1]Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu
[2]Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Bioinżynierii i Hodowli Zwierząt, Zakład Hodowli Trzody Chlewnej i Oceny Mięsa

Wzrost społecznej świadomości i dyskusje dotyczące jakości spożywanych produktów spowodowały, że konsumenci coraz częściej zwracają uwagę nie tylko na cenę, lecz także na jakość kupowanych produktów mięsnych. Mięso o gorszej jakości nie jest akceptowane, m.in. z powodu kojarzenia jakości z bezpieczeństwem spożywanej żywności [14]. Wieprzowina jest jednym z najczęściej konsumowanych rodzajów mięsa na świecie. W Polsce w 2016 roku spożycie mięsa wieprzowego na jednego mieszkańca wynosiło 40,8 kg i było wyższe od spożycia mięsa drobiowego i wołowego, które sięgało odpowiednio 29,2 kg i 2,1 kg [28].

Na jakość mięsa wieprzowego wpływają czynniki genetyczne (25-45%), w tym rasa i genotyp, oraz środowiskowe (55-75%). Wiele cech jakości wieprzowiny jest uwarunkowanych przez geny, m.in. *RYR1* (gen receptora rianodyny), *PRKAG3* (gen podjednostki γ kinazy białkowej aktywowanej przez AMP), *PKM2* (gen kinazy pirogronianowej mięśni), *CAST* (gen kalpastatyny), *MYOG* (gen miogeniny), *H-FABP* (gen białka transportującego kwasy tłuszczowe mięśnia sercowego). Do czynników środowiskowych należą warunki odchowu (technologie chowu i tuczu), pora roku, poziom stresorów podczas tuczu i obrotu przedubojowego, technologia uboju oraz sposób schładzania tusz i dojrzewanie mięsa [44, 47, 54, 80, 101]. W badaniach Przybylskiego i wsp. [86] wykazano, że w badanej grupie 390 tuczników, pochodzących z krzyżowania loch linii Naima z knurami hybrydami linii P76 –

PenArLan, mięso z wadą PSE występowało w 2,31%, a mięso częściowo PSE – w 5,13% tusz. Autorzy przypisują występowanie mięsa wadliwego raczej stresogennym warunkom obrotu przedubojowego i uboju niż czynnikom genetycznym, ponieważ stada świń PenArLan są od lat objęte programem eliminacji allelu *RYR1*^{T} [86]. Czynniki stresowe związane z postępowaniem przedubojowym mogą wyzwalać miopatie stresowe w mięśniach. Jest to grupa schorzeń o podłożu genetycznym, które powodują nieprawidłowe przemiany energetyczne w mięśniach i w konsekwencji zmiany jakościowe ujawniające się wadami mięsa [48].

Wadliwe mięso ma ograniczoną funkcjonalność, która jest spowodowana przez jedną lub więcej niepożądanych cech: nieodpowiednią barwę, smak, teksturę i przydatność przetwórczą oraz kulinarną [85, 102]. Mięso jasne (ang. *pale*), miękkie (ang. *soft*) i wodniste (ang. *exudative*), nazywane mięsem PSE, ma bledszy kolor, miękką konsystencję, obniżoną zdolność utrzymania wody własnej, wysoki ubytek masy i znaczne zakwaszenie tkanki mięśniowej w 45 minut i 24 godziny po uboju w porównaniu z mięsem normalnym, określanym jako RFN (ang. *reddish-pink, firm, non-exudative* – czerwonaworóżowe, twarde, niecieknące). Są to właściwości niepożądane nie tylko pod względem oceny sensorycznej, ale również z powodu obniżenia wartości technologicznej [18, 45, 46].

Problem jasnego i wodnistego mięsa został zauważony już w latach 50. XX wieku. Pierwsze doniesienie pochodzi z 1954 roku. Ludvigsen pierwotnie określił to odchylenie jakościowe jako *muscle degeneration*. W 1955 r. we Francji wada została opisana przez Henry i wsp., a w 1959 roku w USA przez Briskeya i wsp. [13]. Pierwsze badania dotyczące występowania mięsa PSE w USA wykazały, że spośród 15 tys. analizowanych szynek 18% było dotkniętych tą wadą. Dalsze badania pozwoliły stwierdzić, że pewne rasy i linie świń mają predyspozycje do występowania mięsa PSE w tuszy. W Europie wada PSE występowała m.in. u ras landrance i pietrain [13, 14]. W Polsce w latach 70. XX wieku ponad 5% tusz dostarczanych do zakładów mięsnych było dotkniętych tą wadą. Na przełomie lat 80. i 90. odnotowano w szczególności w obrębie rasy pbz o wysokiej mięsności, ale i znacznej wrażliwości na stres, znaczący wzrost (ok. 10-20%) występowania tusz z mięsem PSE [48]. Weryfikacja występowania tej wady w różnych rasach przyczyniła się do odkrycia zależności między występowaniem wady PSE w tuszach zwierząt dobrze umięśnionych, co było konsekwencją intensywnej selekcji w kierunku poprawy mięsności świń [14].

Mięśnie w tuszy różnią się m.in. pod względem predyspozycji do utraty koloru, spadku pH oraz skłonności do wystąpienia wady PSE. Zazwyczaj zmiany PSE nie obejmują całego układu mięśniowego tuszy, ale występują w najwartościowszych wyrębach, o dużym udziale białych włókien mięśniowych, które z powodu większej zawartości glikogenu są bardziej predysponowane do powstania PSE niż włókna czerwone. Najczęściej wada PSE występuje w mięśniu najdłuższym grzbietu (*m. longissimus dorsi*), mięśniu półbłoniastym, czterogłowym i dwugłowym uda, a zmianami może być objęta tylko część mięśnia [2, 13, 48]. W badaniach Mlynka i wsp. z 2013 roku [70], przeprowadzonych na tucznikach transportowanych z trzech krajów europejskich (Słowacji, Węgier i Holandii), wykryto niższy udział wad typu PSE w *musculus semimembranosus* (12,68%) niż w *musculus longissimus dorsi* (19,44%).

Czynniki genetyczne

Głównym sposobem wykrycia osobników predysponowanych do wystąpienia mięsa PSE jest pojawienie się u nich objawów świńskiego zespołu stresowego (ang. *Porcine Stress Syndrome* – PSS), znanych u człowieka jako gorączka złośliwa (ang. *malignant hyperthermia*). PSS objawia się u świń nadmiernym pobudzeniem, trudnościami w poruszaniu i oddychaniu, przebarwieniami na skórze, sztywnością mięśni, a nawet nagłą śmiercią [6, 7, 58]. W latach 70. XX w. opracowano metodę służącą do wykrywania osobników wrażliwych na stres, mających predyspozycje do występowania mięsa z wadą PSE. Test opierał się na ekspozycji młodych świń na anestetyk halotan i w zależności od wystąpienia objawów PSS – klasyfikacji osobników jako wrażliwych Hal^{+} i niewrażliwych Hal^{-}. W kolejnych latach udowodniono, że wrażliwość świń na stres jest uwarunkowana genetycznie przez recesywny autosomalny gen, którego *locus* nazwano *HAL*, od anastetyku stosowanego w teście halotanowym. Allel *HAL*^{N} oznaczał dominujący, prawidłowy allel, a *HAL*^{n} allel recesywny, powodujący wystąpienie PSS [48, 58].

Pierwsze doniesienia na temat biochemicznych podstaw PSS dotyczyły znaczącej różnicy w tempie wypływu Ca^{2+} z mitochondriów tkanki mięśniowej w warunkach beztlenowych między osobnikami wrażliwymi (ang. *stress-susceptible* – SS) a odpornymi na stres (ang. *stress-resistant* – SR). U osobników SS był on dwukrotnie wyższy niż u SR. Dodatkowo zauważono, że halotan zwiększał wyrzut jonów wapniowych z mitochondriów tylko u osobników SS. Sądzono wówczas, że to nadmiar uwolnionych jonów Ca^{2+} z mitochondriów osobników SS jest czynnikiem powodującym wadę PSE i przypadki gorączki złośliwej [17].

Poznanie znaczenia uwalniania jonów Ca^{2+} z siateczki sarkoplazmatycznej w mięsie PSE przyczyniło się do dalszych odkryć. W 1991 r. zostały opublikowane przełomowe prace Fuji i wsp. [27] oraz Otsu i wsp. [77], informujące o zidentyfikowaniu na chromosomie szóstym świni punktowej mutacji w genie receptora rianodyny, jako przyczyny gorączki złośliwej u świń. Wykryta mutacja występuje w genie *RYR1* kodującym izoformę 1 receptora rianodynowego (RYR1). Jest on homotetramerycznym kanałem wapniowym uwalniającym jony Ca^{2+} z ER komórek mięśni szkieletowych, które są wymagane do powstania skurczu. Mutacja w *RYR1* w pozycji 1843, polegająca na tranzycji cytozyny na tyminę (C1843T), skutkuje zmianą w sekwencji aminokwasowej – argininy w pozycji 615 na cysteinę (R615C). Powoduje to zwiększenie wrażliwości RYR1 na jony Ca^{2+} i dłuższy czas otwarcia kanału oraz wzrost ilości Ca^{2+} wymaganej do jego inaktywacji. W konsekwencji w sarkoplazmie pojawia się nadmierna ilość Ca^{2+}, powodująca ciągły skurcz miocytów i sztywność mięśni (rys. 1B). Przekroczenie stężenia jonów wapniowych w sarkoplazmie powyżej 200 μM prowadzi do aktywacji metabolizmu mięśni i nasilenia produkcji mleczanu *post mortem*. Miocyty reagują zwiększoną produkcją ATP na drodze fosforylacji oksydacyjnej i glikolizy. W konsekwencji dochodzi do kwasicy [8, 10, 31]. Mutacja w genie *RYR1* występuje również u ludzi i jest powodem wystąpienia zespołu hipertermii złośliwej (ang. *malignant hyperthermia* – MH) oraz miopatii typu *central core* (ang. *central core disease* – CCD) [91, 112].

Selekcjonowanie zwierząt w celu uzyskania wysokiej mięsności było przyczyną pojawienia się mutacji w genie *RYR1*, która wywołuje nieprawidłowości metabolizmu, a w konsekwencji pogorszenie jakości mięsa. Homozygoty pod względem tej mutacji (*TT*) są predysponowane do wystąpienia syndromu stresu u świń (ang. *Porcine Stress Syndrome* – PSS), który występuje u ras o wysokim umięśnieniu, m.in. pietrain, landrace belgijska, ponieważ mutacja w genie *RYR1* jest jednocześnie związana z mięsnością i niskim otłuszczeniem tuszy [90]. Wykryta mutacja w genie *RYR1* odpowiada wcześniej opisywanej mutacji w genie halotanowym. Genotypy *RYR1*^{C}*RYR1*^{C}, *RYR1*^{C}*RYR1*^{T} oraz *RYR1*^{T}*RYR1*^{T} odpowiadają genotypom *HAL*^{N}*HAL*^{N}, *HAL*^{N}*HAL*^{n} i *HAL*^{n}*HAL*^{n} [58]. Badania mięsa pochodzącego od tuczników czystorasowych pietrain wykazały, że osobniki homozygotyczne *TT* charakteryzował większy udział mięsa i mniejszy udział tłuszczu niż heterozygoty *CT*, a jakość szynki i polędwicy obu grup była niezadowalająca, przyjmująca wartości typowe dla wady PSE [11]. Inne mutacje odpowiedzialne za występowanie mięsa PSE mogą wiązać się z SERCA i IP3R [31].

Cechy mięśni osobników obciążonych allelem *RYR1^T* przed ubojem

Wadę PSE wywołuje zaburzony metabolizm wapnia obserwowany przed ubojem i po nim. W mięśniach żywych zwierząt dominujący sposób produkcji energii związany jest z utlenianiem. Wyjątkiem jest silny stres, np. podczas walki lub ucieczki, kiedy wydajność tlenowa zostaje przekroczona i konieczne jest wytwarzanie energii również na drodze beztlenowej. W konsekwencji dochodzi do nagromadzenia mleczanu, który jest końcowym produktem rozkładu glikogenu.

W trakcie spoczynku w mięśniach *longissimus dorsi* świni bez nosicielstwa allelu *T* genu *RYR1* stężenie glikogenu wynosi ok. 83 µmol/g mięśni [93]. Natomiast spośród trzech genotypów *RYR1* najniższa zawartość glikogenu w mięśniu *longissimus lumborum* występuje u osobników o genotypie *TT*. Odwrotna zależność dotyczy poziomu mleczanu w mięśniach, która jest najwyższa u homozygot recesywnych *TT*, a najniższa u homozygot dominujących *CC* [25, 52].

Wykazano również różnice między nosicielami allelu recesywnego *RYR1^T* a osobnikami wolnymi od tej mutacji w odniesieniu do reakcji na transport i odpoczynek przed ubojem, po których wykryto różnice w pracy serca oraz poziomie kinazy fosfokreatynowej (ang. *creatine phosphokinase* – CPK), znanej również pod nazwą kinazy kreatynowej (ang. *creatine kinase* – CK). U osobników z genotypem *CT* wystąpiło wyższe tętno i wyższy poziom CPK niż u homozygot *CC* [22]. U homozygot recesywnych *TT* występuje również podwyższenie poziomu kreatyniny, bilirubiny, alkalicznej fosfatazy, kinazy fosfokreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej (ang. *lactate dehydrogenase* – LDH). Nie wykryto natomiast znaczącej różnicy w zawartości Ca^{2+} w osoczu między osobnikami wrażliwymi a opornymi na stres [82]. U osobników z genotypem *TT* dochodzi pośmiertnie do przyśpieszenia tempa glikogenolizy i glikolizy, o czym świadczy obniżona zawartość ATP, fosfokreatyny i glikogenu oraz wyższy poziom mleczanu. Powoduje to obniżone pH *post mortem* w mięśniach i w konsekwencji pogorszenie jakości mięsa [95]. Parametry charakterystyczne dla genotypów *CC* i *TT* przedstawione są na rysunku 2A.

Stres zwierząt w postępowaniu przedubojowym

Podczas odchowu świnie mogą być narażone na stres wywołany m.in. przez czynniki środowiskowe (niewłaściwy odchów prosiąt, nieoptymalna temperatura w pomieszczeniach inwentarskich). Intensywny chów naraża zwierzęta na większą podatność na czynniki stresowe. Stresory wywołują m.in. aktywację osi podwzgórze-przysadka-kora nadnerczy (HPA) i osi układ współczulny-kora nadnerczy (SAM). Wysoki poziom stresu oraz nieprzestrzeganie reguł prawnych związanych z dobrostanem mają negatywny wpływ m.in. na płodność i odporność zwierząt oraz jakość mięsa [68, 116]. Każdy etap postępowania przedubojowego, szczególnie traktowanie w czasie transportu do rzeźni i w rzeźni, jest istotny dla ostatecznej jakości mięsa. Około 10-25% przypadków mięsa PSE jest spowodowanych oddziaływaniem różnorodnych stresorów, m.in. zmęczenie fizyczne, głód, pragnienie, ból, zagęszczenie i mieszanie zwierząt od różnych dostawców. Czynniki stresogenne przyspieszają przemiany metaboliczne, w tym przekształcanie glikogenu do mleczanu i jonów wodorowych, co w konsekwencji prowadzi do bardzo szybkiego obniżenia pH w mięsie do 45 min po uboju [47] – rysunek 1A.

Na dobrostan zwierząt i jednocześnie na jakość mięsa istotny wpływ mają załadunek i rozładunek zwierząt, temperatura i czas trwania transportu oraz poziom stłoczenia świń w pojeździe. W czasie transportu kolejowego i drogowego wszystkie świnie muszą mieć możliwość przebywania co najmniej w naturalnej pozycji leżącej i stojącej. Zgodnie z Rozporządzeniem Rady (WE) gęstość załadunku podczas transportu w przypadku świń o masie ciała ok. 100 kg nie powinna przekraczać 235 kg/m^2, czyli ok. 0,426 m^2/100 kg [19]. Małe zagęszczenie utrudnia utrzymanie równowagi i powoduje poranienia zwierząt, natomiast zbyt duże uniemożliwia im przyjęcie wygodnej pozycji i nasila zachowania terytorialne [105]. Przewożenie zwierząt zarówno w zbyt dużej, jak i w zbyt małej obsadzie na jednostkę powierzchni nie jest wskazane, ponieważ powoduje obniżenie pH mięsa mierzonego w 30 minut po uboju [106].

Transport świń na mniejsze odległości stymuluje wytwarzanie mięsa z wadą typu PSE, gdyż stres związany z załadunkiem i rozładunkiem nakłada się na siebie [47]. Transport przed ubojem powoduje wykorzystanie glikogenu, glukozy i glukozo-6-fosforanu, co powoduje pośmiertne większe obniżenie pH w mięśniach. Zauważono, że zwiększone tempo glikolizy jest łagodzone przez odpoczynek przed ubojem. Zastosowanie odpoczynku przedubojowego zwierząt może przyczyniać się do poprawy jakości mięsa i zredukowania częstości występowania wady PSE [98].

Guàrdia i wsp. [30] wykazali, że krótszy czas transportu przy niskim zagęszczeniu zwierząt (0,5 m^2/100 kg) zwiększa ryzyko wystąpienia wady PSE, a w transporcie trwającym dłużej niż 3 godziny optymalne zagęszczenie powinno wynosić 0,425 m^2/100 kg masy ciała zwierząt. Hałas w czasie załadunku czy wyładunku osiągający powyżej 85 dB jest uważany za niekorzystny dla jakości wieprzowiny, ponieważ wokalizacja zwierząt prowadzi do stresu i aktywacji mechanizmów obronnych [107].

Na poziom stresu zwierząt wpływa również łączenie stad świń na fermach lub podczas transportu i odpoczynku przedubojowego. Badania wykazały, że u grup świń mieszanych przed ubojem wystąpił istotny statystycznie obniżony poziom pH w 45 min po uboju oraz obniżone poziomy białek: AK-1, GAPDH i LDH-A [74].

Znaczny wpływ na jakość mięsa ma sposób oszałamiania i wykrwawiania. Skrócenie czasu oszałamiania i bezpośrednie wykrwawianie zwierząt w pozycji leżącej, zamiast w pozycji wiszącej, zmniejsza częstość występowania wadliwego mięsa. Oszałamianie może powodować powstanie krótkiego stresu przed ubojem. Największy stres powstaje w wyniku oszałamiania prądem elektrycznym [47]. Oszałamianie zwierząt przy pomocy dwutlenku węgla generuje mniejszy stres i jakość uzyskanego mięsa jest lepsza niż w przypadku oszałamiania elektrycznego. Wykazano, że w mięśniach zwierząt oszałamianych elektrycznie, w szczególności sposobem *head to brisket*, odnotowano większe tempo spadku pH *post mortem*, a mięso pochodzące od tych zwierząt charakteryzowało się większym wyciekiem naturalnym (ang. *drip loss*) niż mięso zwierząt oszałamianych 90% CO_2 [16, 69]. W badaniach Parka i wsp. [79] wykazano, że najniższa częstość wady PSE występuje przy niskim napięciu używanym do elektronarkozy (220-240 V), w porównaniu do wartości 250-280 i 430 V. W przypadku oszałamiania gazowego dwutlenkiem węgla o dwóch różnych stężeniach – 92% CO_2 i 88% CO_2, mięso z wadą PSE wystąpiło z częstością odpowiednio 16% i 9% [3].

Pora roku, w której przeprowadzany jest ubój, to kolejny czynnik mający wpływ na jakość mięsa, ponieważ temperatura otoczenia przyspiesza tempo przebiegu glikogenolizy *post mortem.* Zaobserwowano wyższą frekwencję występowania mięsa PSE w sezonach wiosennym i letnim, a w jesiennym i zimowym – mięsa z wadą DFD (ang. *dark, firm, dry* – ciemne, jędrne, twarde, suche) [15, 30, 47, 85].

Parametry w mięśniach *post mortem*

Na jakość mięsa wpływają procesy przemiany energii zachodzące w tkance mięśniowej po uboju. Po wykrwawieniu tlen oraz bogate w energię składniki, m.in. glukoza, nie są transportowane do komórek mięśniowych, a cykl kwasów trikarboksylowych oraz fosforylacja oksydacyjna nie funkcjonują. Zużycie energii trwa nadal po śmierci, ale z powodu braku dostępu tlenu do komórek zachodzi oddychanie beztlenowe. W komórkach mięśniowych nadwyżka energii jest składowana w formie glikogenu i fosfokreatyny (ang. *phosphocreatine* –

PCr, inaczej fosforanu kreatyny, ang. *creatine phosphate* – CP), dzięki czemu mięśnie *post mortem* mogą nadal wykorzystywać je jako źródło energii na drodze glikogenolizy i glikolizy beztlenowej [33, 63, 83, 95]. W mięśniach po uboju można wyróżnić trzy stadia: (1) pierwsze 30 minut po uboju: pH nie spada, ATP jest odnawiany w reakcji katalizowanej przez kinazę kreatynową (fosfokreatyna + ADP → ATP + kreatyna); (2) 1-3 godziny po uboju: następuje spadek pH, produkcja kwasu mlekowego oraz początkowo utrzymywane jest stężenie ATP na stałym poziomie; (3) 1-30 godzin po uboju: wyczerpanie ATP z powodu braku glikogenu i inaktywacji enzymów glikolitycznych, pH zostaje ustalone na poziomie ok. 5,5 [33, 95] – rysunek 1D.

Początkowo ATP jest uzupełniany w reakcjach katalizowanych przez kinazę kreatynową (CK), rozkładającą fosfokreatynę (PCr), oraz kinazę adenylanową (AK, inaczej miokinaza). Po wykorzystaniu 70% PCr poziom ATP gwałtownie spada i wykorzystywany jest glikogen zgromadzony w mięśniach. Glikogen jest rozkładany do glukozo-1-fosforanu, który następnie jest przekształcany do glukozo-6-fosforanu, a ten do pirogronianu ($CH_3COCOO^- + H^+$) i ATP [33, 95]. Refosforylacja ADP do ATP przeciwdziała tworzeniu trwałej aktynomiozyny. Gdy rozpad ATP przewyższa tworzenie ATP, powstająca aktynomiozyna skraca sarkomery i zwiększa napięcie mięśni, dając początek *rigor mortis,* czyli stężeniu pośmiertnemu. *Rigor mortis* jest zakończony, gdy cały zapas ATP zostanie zużyty [95].

Stężenie jonów wodorowych (pH)

W trakcie odpoczynku świni odczyn pH tkanki mięśniowej jest prawie obojętny, w *m. longissimus* waha się w zakresie 7,0-7,2. Duża część CO_2 ulega dyfuzji z komórek do erytrocytów, a powstające protony są stale buforowane przez hemoglobinę. W płucach zachodzi odwrotna reakcja, w której na 1 mol wydychanego CO_2 neutralizowany jest 1 mol protonów [83]. Natomiast w mięśniach *post mortem* produkty metabolizmu nie są usuwane i dochodzi do ich akumulacji.

Jedną z reakcji odpowiedzialnych za obniżenie pH w mięśniach po uboju jest akumulacja H^+ pochodzącego z kwasu mlekowego. Natomiast według Robergsa i wsp. [89] reakcją uznawaną za główną przyczynę kwasicy metabolicznej jest hydroliza ATP do ADP, Pi i H^+, w której zachodzi akumulacja H^+, gdy ilość produkowanych jonów wodorowych przewyższa możliwości buforowania i transportowana ich poza komórkę. Wykorzystując model matematyczny wykazano [96], że ATPaza jest głównym źródłem H^+, a kwas mlekowy nie przyczynia się do zakwaszenia. Nowsza literatura wymienia również hydrolizę nukleotydów, tj. ATP, ADP, AMP i IMP, jako źródło jonów wodorowych obniżających pH po uboju [109] – rysunek 1C.

Nagromadzenie jonów wodorowych powoduje stopniowy spadek pH, a szybkość tego spadku jest czynnikiem decydującym o ostatecznej jakości i wartości technologicznej wieprzowiny. Homozygoty recesywne (*TT*) i heterozygoty (*CT*) pod względem genu *RYR1* w porównaniu z homozygotami dominującymi (*CC*) mają niższe pH w mięsie po uboju [99]. U zwierząt odpornych na stres pH mięśni bezpośrednio po uboju wynosi 7,0-6,8 [48]. Stopniowo przebiegająca glikogenoliza wywoduje spadek pH do ok. 5,5-5,6 po 24 godzinach od uboju, a przy ubogiej zawartości glikogenu do 6,0 [58]. U osobników obciążonych genem $RYR1^T$ szybkie tempo glikogenolizy powoduje gwałtowny spadek pH, do poniżej 5,8 w czasie 60 min po uboju [55]. Na tej podstawie, do powszechnie wykorzystywanych kryteriów pozwalających identyfikować wadliwe mięso należy pomiar pH tkanki mięśniowej wykonany w 45-60 minut (pH_1) oraz 24 godziny po uboju zwierzęcia (pH_{24}) [49]. Gwałtowny spadek pH charakterystyczny dla mięsa PSE wpływa negatywnie na zdolność utrzymywania wody przez mięso, jego barwę oraz wskaźnik wydajności technologicznej wyrażony wartością (TY) [50].

Wykazano, że na końcowe pH mięsa (pH_u), a tym samym na jego jakość, wpływa zawartość glikogenu w mięśniach zwierząt. Głodówka przedubojowa jest sposobem na zredukowanie zawartości glikogenu w mięśniach w momencie uboju i tym samym na podwyższenie pH_{24h}, co polepsza WHC i kolor mięsa [92]. Eikelenboom i wsp. [20] wykazali, że głodzenie zwierząt przez 16-24 godziny przed ubojem podwyższa pH_u oraz zmniejsza występowanie wady PSE mięsa. Guàrdia i wsp. [30] dowodzą, że minimalne ryzyko wystąpienia wady PSE występuje w przypadku odstawienia paszy na okres od 18 do 22 godzin przed transportem świń do zakładu. Dzięki odstawieniu paszy glikoliza w mięśniach zwierząt nie zachodzi na wysokim poziomie. Z drugiej strony, wydłużona głodówka nie jest wskazana, ponieważ zwiększa agresję zwierząt, a dłuższa niż 22 godziny zwiększa występowanie mięsa z wadą DFD z powodu wyczerpania zapasów glikogenu w mięśniach [23, 29, 30].

Temperatura mięśni

Zatrzymanie krążenia powoduje zgromadzenie ciepła i wzrost temperatury tuszy nawet powyżej 42°C [12]. W badaniach Schäfer i wsp. [94] temperatura mięśni osobników odpornych na stres bezpośrednio po uboju wynosiła 38,3-41,7°C. U osobników wrażliwych na stres szybkie tempo glikogenolizy podwyższa temperaturę tuszy do 41,5-43°C [48]. Wykazano, że temperatura mięśni *longissimus lumborum* i *semimembranicus* po 40 minutach od uboju u osobników wrażliwych na stres (*TT*) jest wyższa o ok. 1°C w porównaniu z osobnikami odpornymi (*CC*) i nosicielami allelu *T* względem genu *RYR1* (*CT*) [25]. Wykazano, że wychładzanie tuszy w czasie pierwszych 90 minut po uboju (temp. –5°C do 7°C) obniża występowanie wady PSE [79]. Korzystny wpływ schładzania tusz polega na obniżeniu temperatury oraz redukcji intensywności glikolizy i spadku pH, co w konsekwencji zmniejsza stopień denaturacji białek i polepsza wodochłonność mięsa [9].

Poziom ATP i IMP/ATP

Metabolizm *post mortem* mięśni polega na utrzymaniu homeostazy i poziomu ATP. Po uboju poziom ATP, zatrzymujący mięśnie w skurczu, jest utrzymywany przez rozpad fosfokreatyny (PCr), która jest rozkładana w pierwszej kolejności, oraz glikogenu. Po zużyciu 70% PCr aktywowana zostaje glikogenoliza [63]. ATP jest produkowany poprzez refosforylację ADP przez kinazę kreatynową, kinazę pirogronianową oraz kinazę adenylanową, która przekształca dwie cząsteczki ADP na ATP i AMP. Następnie deaminaza AMP (AMPD) przekształca AMP do inozyno-5'-monofosforanu (IMP). Powoduje to obniżenie stężenia ATP, ponieważ IMP jest końcowym produktem i nie może uczestniczyć w formacji ATP. Całkowita konwersja nukleotydów adeninowych do IMP świadczy o ukończeniu glikolizy *post mortem* i ustaleniu pH końcowego w mięsie (rys. 1C). Wykorzystując różną maksymalną wartość absorbancji UV dla ATP i IMP, utworzono wskaźnik przemian glikolitycznych IMP/ATP, czyli R_1, oznaczający proporcję absorbancji 250/260 nm. R_1 w połączeniu z wartością pH_1 jest skuteczną metodą identyfikacji mięsa z wadą PSE. Niestety z powodu długiego czasu pomiaru jednej próbki (3-4 min) miała ona w latach 70. XX w. ograniczone zastosowanie w rzeźniach [21, 32]. Wyodrębniono klasę mięsa „częściowo PSE", odznaczającego się stosunkiem IMP/ATP w 45 min po uboju (R_1) poniżej 1,05 oraz niskim pH_1 (poniżej 6,0) [45].

W mięśniach *post mortem* wykazano również wcześniejszą i gwałtowniejszą aktywację kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (ang. *AMP-activated protein kinase* – AMPK) u osobników CT w porównaniu z CC. Aktywowana w ten sposób AMPK przyspiesza proces glikolizy. Większa aktywność AMPK u osobników CT przyczynia się do większego zużycia ATP i podwyższenia współczynnika AMP/ATP w mięśniach po uboju niż u osobników CC [97].

Wykazano również istotne różnice pomiędzy genotypem *CC* a *CT* u samic w odniesieniu do dwóch białek albuminy i izoenzymu pierwszego kinazy adenylanowej (AK-1), które były

wyższe u samic *CT*. Badanie wykazało również, że samice *CT* mają obniżoną wartość peroksydazy glutationowej (ang. *glutathione peroxidase* – GPx) w porównaniu z samicami *CC* [75] – rysunek 2B.

Wpływ allelu *RYR1^T* na jakość wieprzowiny

Wymienione wcześniej czynniki środowiskowe i genetyczne, w szczególności nosicielstwo allelu *RYR1^T*, wpływają na wzrost stresu u zwierzęcia, zwiększającego intensywność procesów katabolicznych. W konsekwencji dochodzi do nagromadzenia H^+ w tkankach i spadku pH oraz zmian w strukturze mięśni. Mięsień szkieletowy jest złożony w około 90% z włókien mięśniowych i w 10% z tkanki tłuszczowej i łącznej. Składa się z wody (ok. 75%), białka (ok. 20%), tłuszczu (1-10%) i glikogenu (1%), obecne są również niebiałkowe związki azotowe, substancje mineralne i witaminy [41, 64].

Denaturacja białek

Białka stanowią 16-22% tkanki mięśni szkieletowych i są sklasyfikowane, według ich funkcji, jako miofibrylarne, sarkoplazmatyczne i łącznotkankowe. Do białek miofibrylarnych należą: miozyna, aktyna, titina, tropomiozyna, troponina, alfa-aktynina, desmina. Aktyna i miozyna są białkami wpływającymi m.in. na zdolność utrzymywania wody własnej przez mięso. Białka sarkoplazmatyczne są rozpuszczalne w wodzie i charakteryzują się małą masą cząsteczkową (ok. 30-65 kDa). W ich skład wchodzą enzymy lizosomalne, kinaza kreatynowa, dehydrogenaza kwasu mlekowego, białka barwników (chromoproteiny), w tym mioglobina i cytochromy, oraz białka związane z lipoproteinami i kwasami nukleinowymi. Do ostatniej frakcji białek łącznotkankowych należą głównie kolagen i elastyna [41, 84, 113].

Wysoka temperatura i niskie pH powodują denaturację białek miofibrylarnych i sarkoplazmatycznych [12]. Intensywne przemiany glikolityczne u osobników obciążonych allelem *T* względem genu *RYR1*, tj. o genotypie *TT* i *CT*, powodują zmiany w przemianach proteolitycznych białek, m.in. gwałtowną degradację troponiny T (Tn-T) i zmniejszoną zawartość titiny T2. Profil białkowy mięśni z wadą PSE wykazuje wyższą zawartość μ-kalpainy niż w mięśniach normalnych, niższą ilość białek miofibrylarnych (miozyny LC1 i TnC) oraz większą zawartość fosfoglukomutazy (PGM). Wykazano również dodatnią korelację między zawartością PGM a wyciekiem wody [58, 117].

Zdolność utrzymywania wody własnej przez mięso (WHC)

Wodę mięśniową można podzielić na: związaną m.in. z grupami hydrofilowymi białek, unieruchomioną i wolną. Największy udział w tkance mięśniowej stanowi woda unieruchomiona, rozmieszczona w przestrzeniach kapilarnych wewnątrzkomórkowych i międzykomórkowych mięśnia, głównie pomiędzy filamentami miozynowymi i aktynowymi miofibryli [12, 35, 59, 80].

Woda w komórkach mięśniowych jest utrzymywana głównie w obrębie struktur miofibryli i w sarkoplazmie. W warunkach przyżyciowych wodę w komórce zatrzymuje sarkolemma. Po uboju miofibryle ulegają skurczeniu poprzecznemu, czyli zmniejsza się średnica miofibryli, jak i podłużnemu, w zakresie długości sarkomerów. Sarkomery skracają się z powodu *rigor*, zimna lub ciepła. W wyniku skurczenia miofibryli cząsteczki wody z ich struktury są przenoszone do sarkoplazmy. Gdy pH spada, woda przechodzi przez błonę komórkową do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [108].

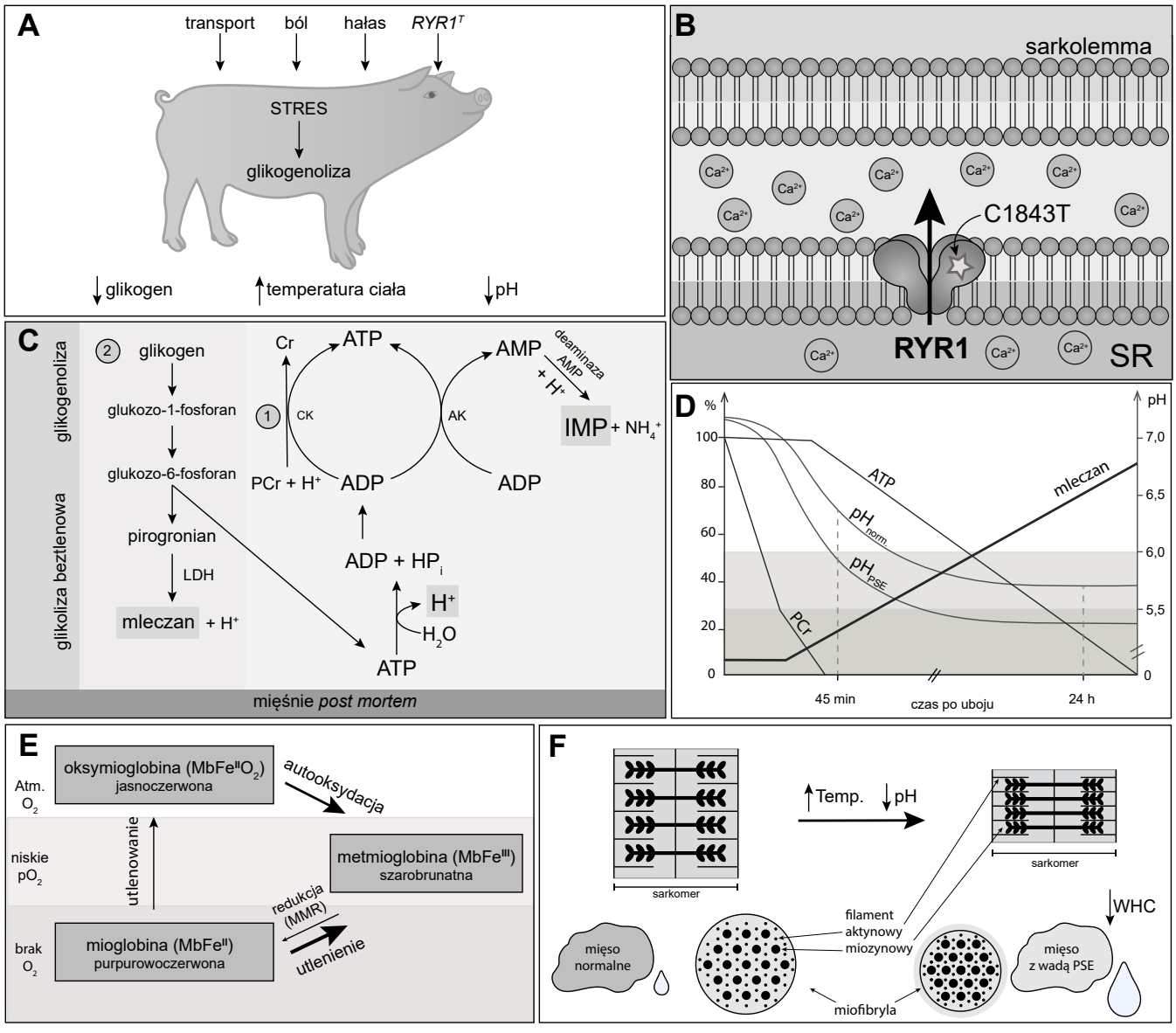
Zdolność utrzymywania wody własnej przez mięso (ang. *water-holding capacity* – WHC) to ilość wody, którą mięso potrafi utrzymać podczas krojenia, ogrzewania, transportu, przechowywania i gotowania. Jest ona istotnym parametrem jakości mięsa zarówno dla przemysłu, jak i dla konsumentów. Na WHC mają wpływ m.in. nosicielstwo genu *RYR1^T*, stres przedubojowy, metoda oszałamiania i chłodzenia tuszy. Te czynniki wpływają na procesy chemiczne i fizyczne w czasie przemiany mięśni w mięso [94, 108].

Homozygoty recesywne (*TT*) i heterozygoty (*CT*) pod względem genu *RYR1* w porównaniu z homozygotami dominującymi (*CC*) mają obniżoną zdolność wiązania wody, dlatego mięso z wadą PSE charakteryzuje się dużym wyciekiem wody. W mięśniach z predyspozycją do wystąpienia wady PSE w krótkim czasie po uboju panuje wysoka temperatura (ok. 35-42°C), przy jednoczesnym gwałtownym spadku pH do wartości pH_u [99, 108]. Szybki spadek pH do poziomu bliskiego pH_u, gdy temperatura mięśni jest nadal wysoka, powoduje denaturację białek, objawiającą się utratą ich funkcjonalności i zdolności utrzymania wody [34]. Warner i wsp. [110] wykazali niższą rozpuszczalność frakcji białek sarkoplazmatycznych i miofibrylarnych w mięśniach PSE w porównaniu do RFN i DFD. Wilson i van Laack [111] stwierdzili, że białka sarkoplazmatyczne wpływają na WHC. Istotną rolę w wiązaniu wody odgrywają również alfa-aktynina oraz miozyna, które w zakresie temperatury 40-50°C ulegają denaturacji [78, 114]. Zdaniem Liu i wsp. [66] denaturacja białek miofibrylarnych powoduje redukcję przestrzeni między filamentami i obniżenie WHC o 16%. Wykazano również, że proces *rigor* zachodzący w warunkach podobnych do panujących w mięśniach PSE, czyli w temperaturze 38°C i pH 5,5, powoduje znaczne zmniejszenie przestrzeni między filamentami, w porównaniu do zachodzącego przy pH 7,0 i 22°C. Ma to negatywny wpływ na WHC [65]. Offer i wsp. [73] wykazali, że denaturujące warunki w mięśniach PSE powodują kurczenie główek miozynowych i wystąpienie skurczu miofibryli w przekroju poprzecznym.

Podsumowując, obniżenie WHC w mięśniach PSE jest spowodowane denaturacją miozyny w okresie *prerigor*, skurczeniem miofibryli w przekroju poprzecznym, skróceniem sarkomerów, degradacją białek cytoszkieletowych i w konsekwencji uwolnieniem wody z komórek mięśniowych [108] – rysunek 1F.

Barwa mięsa

Barwa mięsa jest jednym z istotnych wyróżników decydujących o jego przydatności kulinarnej i akceptowalności przez konsumentów. Zabarwienie mięsa jest m.in. zależne od stężenia barwników hemowych, takich jak mioglobina, hemoglobina i cytochrom C. Mioglobina (Mb) to główny barwnik tkanki mięśniowej, występujący w czterech podstawowych formach, różniących się stopniem utlenienia atomu żelaza i obecnością ligandu: deoksymioglobiny (mioglobiny), metmioglobiny, oksymioglobiny i karboksymioglobiny. Na kolor mięsa w czasie przechowywania wpływa zawartość poszczególnych form mioglobiny, która zależna jest od ciśnienia parcjalnego tlenu (pO_2) w atmosferze, temperatury i pH. Pod wpływem wysokiej koncentracji tlenu purpurowoczerwona deoksymiglobina z atomem Fe^{2+}, czyli w postaci żelazawej ($MbFe^{II}$), przechodzi w utlenowaną oksymioglobinę ($MbFe^{II}O_2$) o kolorze jasnoczerwonym, najbardziej preferowanym przez konsumentów. W warunkach niskiego pO_2 deoksymioglobina ulega utlenieniu do postaci żelazowej (Fe^{3+}) – metmioglobiny ($MbFe^{III}$) o niepożądanej brązowej barwie. Oksymioglobina, poprzez autooksydację, może również ulec przekształceniu do metmioglobiny pod wpływem zewnętrznych czynników, m.in. światła [1, 39, 67, 71, 76, 81, 88]. Mięso z wadą PSE charakteryzuje się bladą, szarobiałą barwą, ponieważ przy bardzo niskim pH wzrasta poziom autooksydacji mioglobiny oraz dochodzi do obniżenia aktywności reduktazy metmioglobiny (ang. *metmioglobin reductase* – MMR). W rezultacie na powierzchni mięsa, w miarę jego przechowywania, wzrasta procentowa zawartość metmioglobiny [103, 115]. Powoduje to zmniejszenie intensywności koloru mięsa (rys. 1E). Podobną zależność wykryto w badaniach nad wołowiną; mięso o ciemniejszym kolorze posiadało wyższe pH_u i wyższe stężenie mioglobiny z większą zawartością deoksymioglobiny i mniejszą oksymioglobiny [36].



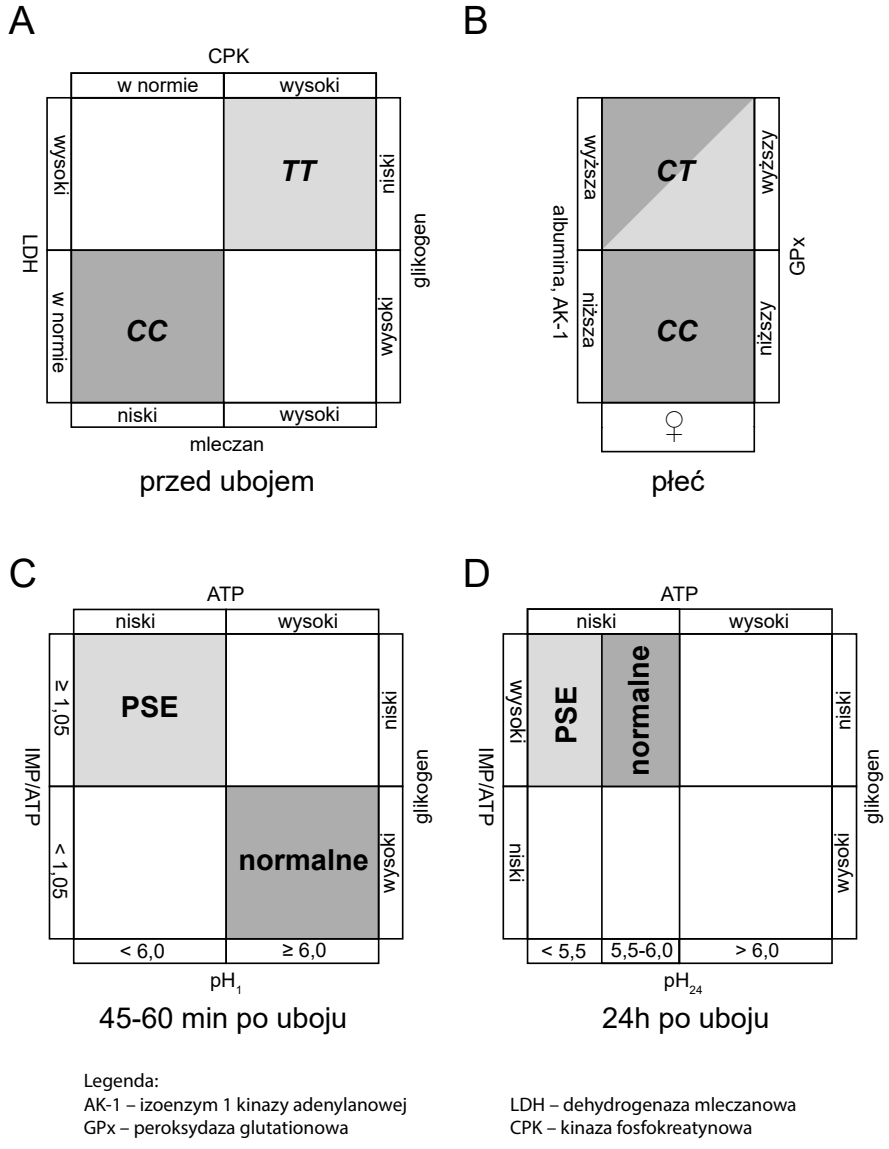
Legenda:
AK – kinaza adenylanowa
ADP – adenozynodifosforan
AMP – adenozynomonofosforan
ATP – adenozynotrifosforan
CK – kinaza kreatynowa
LDH – dehydrogenaza mleczanowa
SR – siateczka sarkoplazmatyczna

Rys. 1. Przyczyny występowania wady mięsa typu PSE. (A) Stres zwierząt w czasie postępowania przedubojowego zwiększa tempo glikogenolizy, podwyższa temperaturę ciała i spadek pH w mięśniach; (B) Mutacja C1843T w *RYR1* zwiększa stężenie Ca^{2+} w sarkoplaźmie, skurcz mięśni i aktywację procesów katabolicznych; (C) W mięśniach przez pierwsze 30 minut *post mortem* zachodzi proces tworzenia ATP z fosfokreatyny (PCr) (1), następnie ATP powstaje z wykorzystaniem glikogenolizy (2), hydroliza ATP przyczynia się do powstania dużej ilości H^+ w mięśniach *post mortem* i spadku pH, końcowym produktem rozpadu ATP w mięśniach po uboju jest inozyno-5'-monofosforan (IMP), co powoduje wzrost współczynnika R_1 (IMP/ATP); (D) Zmiany poziomu ATP, PCr, mleczanu po uboju oraz poziomu pH w mięsie o normalnej jakości ($pH_{norm.}$) i mięsie z wadą PSE (pH_{PSE}); (E) Przemiany mioglobiny w różnych warstwach mięsa: w najbardziej zewnętrznej warstwie mięsa, w obecności tlenu atmosferycznego dochodzi do utlenowania mioglobiny do oksymioglobiny, a w głębszych warstwach mięśnia pod wpływem niskiego ciśnienia parcjalnego tlenu (pO_2) dochodzi do utlenienia mioglobiny do metmioglobiny. W mięsie wodnistym pod wpływem niskiego pH dochodzi do zwiększonej autooksydacji oksymioglobiny i zmniejszonej aktywności reduktazy metmioglobiny (MMR), w rezultacie zwiększonej zawartości metmioglobiny. Jest to jedna z przyczyn bladej barwy mięsa PSE; (F) Pogorszenie wodochłonności mięsa PSE związane jest ze spadkiem pH przy wysokiej temperaturze ciała, co powoduje denaturację białek, m.in. główek miozynowych. Skutkiem tego jest zmniejszenie przestrzeni między filamentami aktynowymi i miozynowymi i zmniejszeniem średnicy miofibryli, a tym samym przestrzeni dla wody unieruchomionej. W konsekwencji, obniżona zostaje zdolność utrzymywania wody przez mięso (↓WHC) i zwiększony wyciek naturalny [27, 33, 42, 49, 60, 66, 67, 71, 73, 76, 108, 109, 115]

Inne spojrzenie na mechanizmy decydujące o kolorze mięsa wskazuje na rolę rozpraszania światła przez włókna mięśniowe oraz gęstość optyczną warunkowaną przez długość sarkomeru. W mięśniach o niskim pH_u wykazano dłuższe sarkomery niż w mięśniach o wyższym pH_u. Podobną zależność uzyskano w mięśniach z wadą PSE w porównaniu do mięśni z wadą DFD. We włóknach mięśniowych o niższym pH dochodzi również do zmniejszania średnicy włókien [36, 38].

Metody diagnozowania osobników z PSS i z wadą mięsa PSE

Zaburzenia metabolizmu w mięśniach zwierzęcia przed ubojem mają wpływ na właściwości fizyczne i chemiczne tkanki mięśniowej *post mortem* oraz cechy jakościowe mięsa. Wykorzystanie wiedzy o podatności osobników wrażliwych na stres do wytwarzania mięsa obarczonego wadą PSE były podsta-



Rys. 2. Wskaźniki biochemiczne osobników *CC*, *CT* i *TT* oraz cechy mięsa normalnego i PSE. (A) Genotypy *TT* i *CC* w locus *RYR1* różnią się pod względem parametrów w mięśniach przed ubojem; (B) Różnice w poziomie albuminy, AK-1 i GPx między samicami o genotypach *CC* i *CT*; (C) Wskaźniki biochemiczne mięsa z wadą PSE i normalnego 45-60 min po uboju; (D) Wskaźniki biochemiczne mięsa 24 godziny po uboju [42, 45, 49, 75]

wą stworzenia testu halotanowego. W 1974 r. Eikelenboom i Minkema opracowali metodę wykrywania osobników wrażliwych na stres, która opierała się na ekspozycji młodych świń na mieszankę 2-4% halotanu (2-bromo-2-chloro-1,1,1-trifluoroetanu) z powietrzem, podawaną przez 5 minut. Gdy podczas testu pojawiały się oznaki PSS, m.in. sztywność mięśni kończyn i brzucha, test przerywano i osobnik klasyfikowany był jako pozytywny (ang. *Malignant Hyperthermia Syndrome--susceptible*). Gdy po 5 minutach nie pojawiały się objawy, osobnika klasyfikowano jako *non-reactor*. Wyniki testów halotanowych przeprowadzanych na różnych rasach świń wykazały dużą odporność rasy świń duroc i wielkiej białej oraz dużą wrażliwość rasy pietrain. Test halotanowy był uważany za najbardziej odpowiedni do zastosowania w hodowli trzody chlewnej i programach selekcyjnych, gdyż diagnozował młode osobniki (8-12-tygodniowe) i nie wymagał analiz laboratoryjnych [48, 58, 104]. Nie była to jednak metoda idealna. W wyniku niepełnej penetracji genu *Hal*^{n}, która zależała od rasy lub linii, nie wszystkie homozygoty *nn* były wrażliwe na halotan, nie były więc wykrywane. Reakcja na anestetyk różniła się również w zależności od wieku zwierzęcia i mogła powodować nagłą śmierć. Kolejną wadą był brak możliwości odróżnienia homozygoty dominującej *CC* od heterozygoty *CT* [40, 48].

Przełomowe dla odkrycia genetycznych podstaw genotypu halotanowego były badania Fuji i wsp. [27]. Autorzy wykorzystali do badań rasę pietrain, wrażliwą na rozwój PSS (ang. *malignant hyperthermia susceptible* – MHS) oraz yorkshire, oporną na rozwinięcie PSS (ang. *malignant hyperthermia normal* – MHN). Mutacja C1843T usuwa miejsce cięcia dla enzymu restrykcyjnego HinP1 (G*C*GC) i tworzy miejsce cięcia dla enzymu HgiA1 (G*T*GCTC). Pojedyncza mutacja zmieniająca argininę na cytozynę może być również wykrywana przy pomocy trawienia trypsyną. U osobników bez mutacji po trawieniu trypsyną powstają dwa fragmenty o wielkości 86 kDa i 13 kDa, natomiast mutacja C1843T powoduje utratę miejsca cięcia dla trypsyny. W konsekwencji po użyciu trypsyny powstaje tylko jeden fragment o wielkości 99 kDa [27]. Dzięki identyfikacji mutacji odpowiedzialnej za występowanie wady PSE powszechne stały się metody genotypowania z wykorzystaniem technik biologii molekularnej. Powszechną metodą wykrywania osobników z mutacją *RYR1*^{T} jest PCR-RFLP, czyli analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (ang. *restriction fragment length polymorphism*) DNA z próbek krwi. Inna możliwa metoda to PCR z wykorzystaniem fluorescencyjnej hybrydyzacji. Dzięki niej można wiarygodnie, szybko i tanio zidentyfikować osobniki wrażliwe na PSS, oporne na PSS, a także heterozygotyczne. Diagnostyka pozwala nie tylko na wykrycie wrażliwych na PSS osobników, ale również na wykorzystanie ich w genetycznej selekcji świń opornych na PSS [5, 90]. Powszechnie dostępne są komercyjne testy DNA HAL-1843™. Test HAL-1843 pozwala na precyzyjną kontrolę rozprzestrzeniania się mutacji. Szacuje się, że mutacja HAL-1843 wyjaśnia około 25-30% przypadków mięsa PSE w przemysłowych rzeźniach [6]. Inną techniką jest qPCR--HRM (ang. *Polymerase Chain Reaction High Resolution Melting*), pozwalającą na szybką i czułą identyfikację genotypu *RYR1*^{T} i wykrycie heterozygot *CT* [37].

Wiedza na temat zmian w metabolizmie zwierząt wrażliwych na stres była podstawą do opracowania metod identyfikujących takie osobniki. Symesma i Eikelenboom w pracy z 1978 roku wymienili, oprócz testu halotanowego, dwie inne metody przyżyciowe. Pierwsza z nich polegała na analizie poziomu CPK i LDH_5 w surowicy. Pobranie krwi mogło być poprzedzone wysiłkiem fizycznym zwierzęcia. Podwyższenie tych charakterystycznych dla tkanki mięśniowej enzymów wskazywało na osobniki z predyspozycją do wystąpienia PSE. Druga metoda opierała się na wykonaniu biopsji mięśnia i oznaczaniu poziomu glukozo-6-fosforanu i kwasu mlekowego [104].

Dalsze badania nad zmianami zachodzącymi w mięśniach zwierząt wrażliwych na stres przyczyniły się do opracowania

bardziej precyzyjnych metod diagnostycznych, w szczególności metod poubojowych. Qu i wsp. [87] wykazali, że analiza parametrów biochemicznych krwi pobranej po uboju pozwala na odróżnienie mięsa z wadą PSE od mięsa normalnego. Wytypowano 5 parametrów biochemicznych, których podwyższenie we krwi związane jest z powstaniem wady PSE. Należą do nich: kinaza kreatynowa (CK), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), aminotransferaza asparaginowa (ang. *aspartate aminotransferase* – AST), poziom glukozy (GLU) i mleczanów (LAC).

Najczęściej stosowane kryteria do diagnozowania mięsa z syndromem PSE to pH tkanki mięśniowej (mięśnia najdłuższego grzbietu) w 45-60 minut (pH_1) i 24 godziny po uboju (pH_{24}), wskaźnik R_1 (stosunek IMP/ATP) oraz przewodnictwo elektryczne w 45 minucie i w 2 godziny po uboju. Na podstawie wielu badań zespołu Koćwin-Podsiadłej [42, 43, 45, 49, 51, 56, 57, 58] opracowano metody diagnozowania mięsa wieprzowego z odchyleniami jakościowymi, spośród których trzy metody mogą mieć zastosowanie w pracy hodowlanej. Metoda pH_1pH_{24} polega na pomiarze stężenia jonów wodorowych tkanki mięśniowej w 45-60 minut oraz 24 godziny po uboju. Metoda pH_1R_1 wykorzystuje pomiar stężenia jonów wodorowych tkanki mięśniowej w 45-60 minut po uboju oraz pomiar stosunku nukleotydów IMP/ATP (wskaźnik R_1). Obie metody wykazują zależności z cechami jakościowymi, m.in. jasnością barwy (L*) i wyciekiem naturalnym, ze współczynnikiem korelacji kanonicznej C_R wynoszącym 0,641** dla metody pH_1pH_{24} oraz 0,647** dla metody pH_1R_1. Metoda $EC_{120}pH_{24}$ opiera się na pomiarze przewodności elektrycznej (ang. *electrical conductivity*) tkanki mięśniowej w 2 godziny *post mortem* (EC_{120}) oraz pH_{24}. Są to kryteria, które w wysokim stopniu warunkują przydatność technologiczną i jakość kulinarną mięsa, m.in. tłuszcz śródmięśniowy, zawartość białka i wyciek naturalny (C_R odpowiednio 0,624* i 0,770**). W przemyśle mięsnym zaleca się stosowanie metod pH_1pH_{24} i $EC_{120}pH_{24}$. Opierając się na metodzie pH_1R_1 mięso o pH_1 poniżej 6,0 i R_1 wyższym bądź równym 1,05 zaliczane jest do mięsa PSE, a w zakresach $pH_1 \geq 6,0$ i $R_1 < 1,05$ do mięsa normalnego. Według metody pH_1pH_{24} mięso wieprzowe o wartości pH_1 poniżej 6,0 i wartości pH_{24} poniżej 5,5 jest uznawane za mięso PSE. Dla mięsa normalnego wartość pH_1 jest wyższa lub równa 6,0, a wartość pH_{24} mieści się w zakresie 5,5-6,0. Metoda $EC_{120}pH_{24}$ pozwala na wyodrębnienie tusz z mięsem o prawidłowych parametrach mieszczących się w zakresie $EC_{120} \leq 4,5$ i pH_{24} od 5,5 do 6,0. Dla mięsa z odchyleniem jakościowym w kierunku PSE wartości te wynoszą powyżej 7,5 dla EC_{120} i poniżej 5,5 dla pH_{24} [42, 49]. Parametry charakterystyczne dla osobników o genotypach *CC*, *CT* i *TT* przed ubojem oraz wskaźniki mięśni 45-60 minut i 24 godziny po uboju zostały przedstawione na rysunkach 2C i 2D.

Wśród metod diagnozujących wadliwe mięso PSE znajdują się również te uwzględniające barwę mięsa. Wykazana została zależność między pH, wartością składowej L* oznaczającej jasność barwy a jakością mięsa. Wartości graniczne L* dla mięsa normalnego powinny kształtować się w granicach 52 do 55, zaś dla mięsa PSE przyjmować wartości powyżej 55 [18, 100].

Straty w przetwórstwie mięsa pochodzącego od świń wrażliwych na stres (*TT*)

Przyspieszone tempo spadku pH w mięśniach po uboju powoduje obniżoną zdolność wiązania wody i straty w procesach obróbki technologicznej. Mięśnie polędwicy i szynki osobników obciążonych genem wrażliwości na stres wykazują obniżoną wydajność mięsa w czasie peklowania, wędzenia i parzenia w porównaniu z osobnikami wolnymi od tego genu. Gotowane szynki pochodzące od osobników o genotypie *TT* są bardziej suche i twardsze, w stosunku do mięsa pochodzącego od *CC* i *CT* [24, 58]. Mięso z wadą PSE charakteryzuje większy o 5,5% wyciek wody i mniejsza o 12,6% wydajność gotowania oraz obniżona wydajność w procesie peklowania i wędzenia od mięsa normalnego, co powoduje, że mięso PSE nadaje się tylko na wyroby trwałe [49, 72, 86].

W celu przeciwdziałania powstawaniu mięsa wodnistego stosowane jest intensywne schładzanie tusz. Wykazano, że ochładzanie tusz w temperaturze –20°C i –10°C w krótkim czasie po uboju (do 80-90 minut) skuteczniej ogranicza występowanie wady PSE niż ochładzanie tuszy w temperaturze 0-4°C [79]. Do zagospodarowania mięsa wodnistego stosowane są również technologie zwiększające wodochłonność mięsa i polepszające jego teksturę, m.in. dodatek środków żelujących, zagęszczających (np. pektyny, żelatyny) oraz podwyższających pH (np. węglanów i fosforanów). W czasie przetwarzania dodawane są również barwniki (m.in. kurkumina, czerwień koszenilowa), ograniczające niekorzystny wpływ mięsa PSE na barwę wyrobów mięsnych. Wykorzystywane jest też panierowanie, które zmniejsza ubytek masy przy smażeniu i grillowaniu z ok. 29-32% do ok. 7% [85]. W celu wykorzystania mięsa PSE oraz zredukowania wpływu jego niskiej jakości na jakość końcowego produktu mięsnego, stosuje się mieszanie mięsa PSE z mięsem dobrej jakości, zazwyczaj w proporcji 25-50% [26].

Eliminacja genu wrażliwości na stres

Pierwsze badania występowania wady PSE w Polsce przeprowadzono w latach 70. XX wieku. Stwierdzono, że wadą dotkniętych było ponad 5% tusz dostarczanych do zakładów mięsnych. Wprowadzenie do programu krzyżowania towarowego niemieckiej rasy landrance, obarczonej wysoką częstością występowania allelu *T*, doprowadziło pod koniec lat 80. do występowania około 30% tusz z syndromem PSE [48].

Wykazano, że allel $RYR1^T$ wpływa na poprawę zawartości mięsa w tuszy, zwiększenie powierzchni oka polędwicy i cieńszą warstwę tłuszczu podskórnego. Fenotypowy efekt allelu $RYR1^T$ różni się między rasami, liniami i badanymi stadami [58]. W przypadku rasy pbz między genotypami *TT* i *CC* udział mięsa w tuszy był większy o około 4%, a powierzchnia oka polędwicy większa o 4,64 cm^2 [44]. W innych badaniach różnica między zwierzętami homozygotycznymi w zakresie procentowej zawartości mięsa wynosiła nawet do 7% [58].

Zwierzęta heterozygotyczne *CT* pod względem genu *RYR1* były przedmiotem zainteresowania wielu badaczy. W odniesieniu do cech jakości, takich jak pH_1, jasność barwy, kruchość mięsa i straty w procesie gotowania, mięso tuczników *CT* przyjmuje wartości zbliżone bardziej do mięsa osobników *CC* niż *TT* [58]. Heterozygoty *CT* charakteryzują się lepiej umięśnionymi tuszami niż *CC* (w przypadku pbz o około 1,6%), a częstość występowania w ich tuszach wady PSE przyjmuje wartość pośrednią między homozygotami (w roku 1996 w rasie pbz – 22% tusz obarczonych wadą PSE pochodziło z osobników o genotypie *CT*, a 77% z osobników o genotypie *TT*) [44]. Efekt allelu $RYR1^T$ na częstość występowania mięsa PSE zależy również od stopnia umięśnienia i masy ubojowej tuczników. Wśród nosicieli genu $RYR1^T$ zawierających powyżej 50% mięsa w tuszy stwierdzono około 16% więcej przypadków wady PSE w porównaniu do ich analogów o mięsności poniżej 50% [58].

Archibald w pracy z 1987 roku opisywał zalety homozygot *TT*, związane m.in. z chudością tuszy i możliwością otrzymywania heterozygot *CT*, które w tamtych czasach były uważane za przeważające nad wadami, jakie ze sobą niesie ten genotyp, czyli nagłych upadków na skutek PSS i występowania wady mięsa PSE [4]. W późniejszych latach stwierdzono jednak, że korzystny wpływ allelu $RYR1^T$ na umięśnienie i zawartość mięsa w tuszy zostaje zniwelowany przez straty związane z wysoką częstością występowania mięsa z wadą PSE (36-100%) [44]. Poza tym osobniki wrażliwe na stres (*TT*), w porównaniu z *CT* i *CC*, mają niższą płodność i dzienny przyrost, większy udział martwych urodzeń, częstsze upadki w czasie załadunku i transportu oraz rozładunku. Udowodniony został również negatywny wpływ allelu $RYR1^T$ w genotypie rodziców na wielkość miotu oraz na przeżywalność prosiąt do

wieku 9-11 tygodni. Mioty rodziców o genotypach *TT*x*TT*, w porównaniu do miotów rodziców *CC*x*CC* i *CC*x*TT*, były mniej liczne w dniu urodzenia i w 21. dniu życia. Po 9-11 tygodniach od urodzenia mioty rodziców o genotypach *CT*x*CT*, *CT*x*TT* i *TT*x*TT* miały mniejszą liczbę prosiąt niż mioty rodziców *CC*x*CC*, *CC*x*CT* i *CC*x*TT* [61].

Uzasadnia to eliminację zwierząt z genem wrażliwości na stres ze stad hodowlanych. Z tego powodu recesywny allel $RYR1^T$ jest stopniowo, ale skutecznie usuwany. Ograniczenie występowania heterozygotycznych osobników *CT*, u których częstość pojawiania się wady PSE sięga 36%, przeciwdziała występowaniu homozygot *TT*. Przykładem są badania prowadzone w latach 1991-1994 na linii pbz-23, w której całkowita eliminacja genu wrażliwości na stres ze stada podstawowego przyczyniła się do obniżenia występowania mięsa PSE z 36% w pokoleniu F0 do 11,6% w pokoleniu F1. Jednocześnie doszło do nieznacznego obniżenia mięsności tusz (o ok. 0,45%) [54, 58, 62, 82]. Występowanie mięsa cieknącego u homozygot *CC* pozostaje przedmiotem rozważań i podawane są inne geny, które mogą się do tego przyczyniać, m.in. gen kalpastatyny (*CAST*) [53]. Obecnie Krajowy Program Hodowlany zakłada eliminację $RYR1^T$ z ras matecznych wbp i pbz.

Podsumowanie

Wada mięsa typu PSE jest spowodowana nadmiernym uwalnianiem jonów wapnia (Ca^{2+}) z siateczki sarkoplazmatycznej, powodującym zaburzenia procesów metabolicznych w tkance mięśniowej przed ubojem zwierzęcia i po nim. Dochodzi wtedy do wzmożonej glikolizy, akumulacji mleczanów w mięśniach, denaturacji białek i kwasicy, które pogarszają cechy jakościowe mięsa. Dzięki wspólnej pracy genetyków i zootechników poznano mechanizmy powstawania tej wady. Dużą rolę w poszerzeniu wiedzy na temat wady PSE wniosły prace polskich zespołów badawczych kierowanych przez prof. Marię Koćwin-Podsiadłą oraz prof. Jolantę Kuryłł. Dzięki badaniom nad wpływem genotypów *CC*, *CT* i *TT* na osobniki i jakość mięsa w tuszy opracowano testy służące do wykrywania osobników obarczonych mutacją oraz metody diagnozowania wadliwego mięsa PSE. Dzięki zidentyfikowaniu odpowiedzialnego za wadę allelu $RYR1^T$ od wielu lat prowadzona jest jego eliminacja, która skutecznie zredukowała przypadki wady PSE. Drugim warunkiem zminimalizowania występowania wady PSE w wieprzowinie jest przestrzeganie dobrostanu zwierząt w czasie tuczu, obrotu przedubojowego i procedur ubojowych.

Literatura: 1. Aalhus J., Dugan M., 2014 – Oxidative and enzymatic. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences (ed. M. Dikeman, C. Devine C.), 394-400. **2. Adzitey F., Huda N.**, 2011 – Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: Causes and measures to reduce these incidences – A mini review. Int. Food Res. J. 18, 11-20. **3. Antosik K., Koćwin-Podsiadła M., Goławski A.**, 2011 – Effect of different CO_2 concentrations on the stunning effect of pigs and selected quality traits of their meat – A short report. Pol. J. Food Nutr. Sci. 61 (1), 69-72. **4. Archibald A.L.,** 1987 – A molecular genetic approach to the porcine stress syndrome. [W:] Evaluation and Control of Meat Quality in Pigs. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science 38 (ed. Tarrant P.V., Eikelenboom G., Monin G.), 343-357. **5. Band G.d.O., Guimarães S.E.F., Lopes P.S., Peixoto J.d.O., Faria D.A., Pires A.V., Figueiredo F.d.C., Nascimento C.S.d., Gomide L.A.d.M.**, 2005 – Relationship between the Porcine Stress Syndrome gene and carcass and performance traits in F2 pigs resulting from divergent crosses. Genet. Mol. Biol. 28 (1), 92-96. **6. Barbut S., Sosnicki A.A., Lonergan S.M., Knapp T., Ciobanu D.C., Gatcliffe L.J., Huff-Lonergan E., Wilson E.W.**, 2008 – Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. Meat Sci. 79 (1), 46-63. **7. Bates R.O., Doumit M.E., Raney N.E., Helman E.E., Ernst C.W.**, 2012 – Association of halothane sensitivity with growth and meat quality in pigs. Animal 6 (9), 1537-1542. **8. Benkusky N.A., Farrell E.F., Valdivia H.H.**, 2004 – Ryanodine receptor channelopathies. Biochem. Biophys. Res. Commun. 322 (4), 1280-1285. **9. Bertram H.C., Karlsson A.H., Andersen H.J.**, 2003 – The significance of cooling rate on water dynamics in porcine muscle from heterozygote carriers and non-carriers of the halothane gene – a low-field NMR relaxation study. Meat Sci. 65 (4), 1281-1291. **10. Betzenhauser M.J., Marks A.R.**, 2010 – Ryanodine receptor channelopathies. Pfluegers Arch. 460 (2), 467-480. **11. Blicharski T., Ostrowski A.**, 1998 – Mięsność tuszy oraz jakość i mikrostruktura mięsa tuczników Pietrain o genotypie HAL^nHAL^n lub HAL^NHAL^n. Pr. Mater. Zoot. Zesz. Spec. 8, 73-80. **12. Brewer M.S.**, **Dikeman M., Devine C.**, 2014 – Water-holding capacity. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences – Second ed. (ed. Dikeman M., Devine C.), 274-282. **13. Briskey E.J.**, 1964 – Ethological status and associated studies of pale, soft and exudative porcine musculature. Adv. Food Res. 13, 89-178. **14. Cassens R.G.**, 2000 – Historical perspectives and current aspects of pork meat quality in the USA. Food Chem. 69 (4), 357-363. **15. Čbanović N., Bošković M., Vasilev D., Dimitrijević M., Parunović N., Djordjević J., Karabasil N.**, 2016 – Effects of various pre-slaughter conditions on pig carcasses and meat quality in a low-input slaughter facility. S. Afr. J. Anim. Sci. 46, 380-390. **16. Channon H.A., Payne A.M., Warner R.D.**, 2002 – Comparison of CO_2 stunning with manual electrical stunning (50 Hz) of pigs on carcass and meat quality. Meat Sci. 60 (1), 63-68. **17. Cheah K.S., Cheah A.M.**, 1976 – The trigger for PSE condition in stress-susceptible pigs. J. Sci. Food Agric. 27 (12), 1137-1144. **18. Chmiel M., Słowiński M., Cal P.**, 2011 – Zastosowanie komputerowej analizy obrazu do wykrywania wady PSE mięsa wieprzowego. Żywn. Nauka Technol. Jakość 6 (79), 47-54. **19.** Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, 2005 – Rozporządzenie Rady (WE) nr 1/2005 z dnia 22 grudnia 2004 r. w sprawie ochrony zwierząt podczas transportu i związanych z tym działań oraz zmieniające dyrektywy 64/432/EWG i 93/119/WE oraz rozporządzenie (WE) nr 1255/97 (Dz.U. L 48, 5.01.2005). **20. Eikelenboom G., Bolink A.H., Sybesma W.**, 1991 – Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. Meat Sci. 29 (1), 25-30. **21. England E.M., Matarneh S.K., Scheffler T.L., Wachet C., Gerrard D.E.**, 2015 – Altered AMP deaminase activity may extend postmortem glycolysis. Meat Sci. 102, 8-14. **22. Fàbrega E., Manteca X., Font J., Gispert M., Carrión D., Velarde A., Ruiz-de-la-Torre J.L., Diestre A.**, 2004 – A comparison of halothane homozygous negative and positive pietrain sire lines in relation to carcass and meat quality, and welfare traits. Meat Sci. 66 (4), 777-787. **23. Faucitano L., Chevillon P., Ellis M.**, 2010 – Effects of feed withdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight, and carcass and meat quality in pigs. Livest. Sci. 127 (2), 110-114. **24. Fernandez X., Gilbert S., Vendeuvre J.L.**, 2002 – Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on pig meat quality. Part 2. Physico-chemical traits of cured-cooked ham and sensory traits of cured-cooked and dry-cured hams. Meat Sci. 62 (4), 439-446. **25. Fernandez X., Neyraud E., Astruc T., Sante V.**, 2002 – Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on pig meat quality. Part 1. Post mortem metabolism, meat quality indicators and sensory traits of *m. longissimus lumborum*. Meat Sci. 62 (4), 429-437. **26. Florowski T., Florowska A., Chmiel M., Adamczak L., Pietrzak D., Ruchlicka M.**, 2017 – The effect of pale, soft and exudative meat on the quality of canned pork in gravy. Meat Sci. 123, 29-34. **27. 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 (5018), 448-451. **28. Główny Urząd Statystyczny**, 2017 – Rocznik Statystyczny Rolnictwa (red. D. Rozkrut). Zakł. Wyd. Stat. 169, 366. **29. Granlund A., Kotova O., Benziane B., Galuska D., Jensen-Waern M., Chibalin A.V., Essen-Gustavsson B.**, 2010 – Effects of exercise on muscle glycogen synthesis signalling and enzyme activities in pigs carrying the PRKAG3 mutation. Exp. Physiol. 95 (4), 541-549. **30. Guàrdia M.D., Estany J., Balasch S., Oliver M.A., Gispert M., Diestre A.**, 2004 – Risk assessment of PSE condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. Meat Sci. 67 (3), 471-478. **31. Guo B., Zhang W., Tume R.K., Hudson N.J., Huang F., Yin Y., Zhou G.**, 2016 – Disorder of endoplasmic reticulum calcium channel components is associated with the increased apoptotic potential in pale, soft, exudative pork. Meat Sci. 115, 34-40. **32. Honikel K.O., Fischer H.**, 1977 – A rapid method for the detection of PSE and DFD porcine muscles. J. Food Sci. 42, 1633-1636. **33. Honikel K.O.**, **Dikeman M., Devine C.**, 2014 – Glycolysis. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences – Second ed. (ed. Dikeman M., Devine C.), 353-357. **34. Huff-Lonergan E., Lonergan S.M.**, 2005 – Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. Meat Sci. 71 (1), 194-204. **35. Huff-Lonergan E., Lonergan S.M.**, 2007 – New frontiers in understanding drip loss in pork: recent insights on the role of postmortem muscle biochemistry. J. Anim. Breed. Genet. 124 (s1), 19-26.

36. Hughes J., Clarke F., Purslow P., Warner R., 2017 – High pH in beef longissimus thoracis reduces muscle fibre transverse shrinkage and light scattering which contributes to the dark colour. Food Res. Int. 101, 228-238. **37. Ilie D., Băcilă V., Cean A., Cziszter L., Neo S.**, 2014 – Screening of RYR1 genotypes in swine population by a rapid and sensitive method. Rom. Biotechnol. Lett. 19 (2), 9170-9178. **38. Irving T.C., Swatland H.J., Millman B.M.**, 1989 – X-Ray diffraction measurements of myofilament lattice spacing and optical measurements of reflectance and sarcomere length in commercial pork loins. J. Anim. Sci. 67 (1), 152-156. **39. Jeong J.Y., Hur S.J., Yang H.S., Moon S.H., Hwang Y.H., Park G.B., Joo S.T.**, 2009 – Discoloration characteristics of 3 major muscles from cattle during cold storage. J. Food Sci. 74 (1), C1-C5. **40. Kathirvel P., Archibald A.L.,** 2001 – The halothane gene, leanness and stress susceptibility in pigs. [W:] Animal Models – Disorders of Eating Behaviour and Body Composition. (ed. Owen J.B., Treasure J.L., Collier D.A.), 173-190. **41. Keeton J.T., Ellerbeck S.M., Núñez de González M.T.**, **Dikeman M., Devine C.**, 2014 – Chemical composition. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences – Second ed. (ed. Dikeman M., Devine C.), 235-243. **42. Koćwin-Podsiadła M.**, 1993 – Metody wykrywania mięsa wadliwego u świń. Monografie nr 26, WSRP Siedlce, 6-95. **43. Koćwin-Podsiadła M.**, 1994 – Wrażliwość świń na stres. [W:] Hodowla i użytkowanie świń (red. Grudniewska B.), ART Olsztyn; 140-168. **44. Koćwin-Podsiadła M.**, 1998 – Zestawienie efektów genów głównych Hal^n i RN^- w zakresie jakości wieprzowiny. Pr. Mater. Zoot. 52, 43-50. **45. Koćwin-Podsiadła M., Chmura-Jankowiak M.**, 1989 – Stosunek nukleotydów IMP/ATP oraz wartość pH w 45 minut po uboju w zastosowaniu do oceny jakości mięsa tuczników. Zesz. Nauk. WSRP Siedlce Ser. Zoot. 19, 49-60. **46. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E.**, 2005 – Jakość wieprzowiny i metody jej doskonalenia. Cz. I. Stan jakościowy surowca wieprzowego w zakresie umięśnienia oraz jakości mięsa i jej odchylenia. Przegl. Hod. 4, 13-19. **47. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E.**, 2005 – Jakość wieprzowiny i metody jej doskonalenia. Cz. III. Metody poprawy cech jakości mięsa. Przegl. Hod. 6, 3-6. **48. Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., Przybylski W.**, 1993 – Fizjologiczne i genetyczne tło występowania wad wieprzowiny indukowanych stresem. Pr. Mater. Zoot. 44, 5-32. **49. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Przybylski W.**, 2006 – Pork quality and methods of its evaluation – a review. Pol. J. Food Nutr. Sci. 15/56 (3), 241-248. **50. Koćwin-Podsiadła M., Przybylski W., Kaczorek S., Krzęcio E.**, 1998 – Quality and technological yeld of PSE (pale, soft, exudative)-, acid- and normal pork. Pol. J. Food Nutr. Sci. 7/48 (2), 217-222. **51. Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., Przybylski W., Kaczorek S., Rozenek-Przybylska A.,** 1993 – Efekt genu Hal^n w zakresie użytkowości rzeźnej i jakości mięsa tuczników linii pbz-23. Zesz. Nauk. Przeg. Hod. 9, 211-216. **52. Koćwin-Podsiadła M., Przybylski W., Kurył J., Talmant A., Monin G.**, 1995 – Muscle glycogen level and meat quality in pigs of different halothane genotypes. Meat Sci. 40 (1), 121-125. **53. Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., Krzęcio E., Zybert A., Przybylski W.**, 2003 – The interaction between calpastatin and RYR1 genes for some pork quality traits. Meat Sci. 65 (2), 731-735. **54. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Zybert A., Sieczkowska H., Antosik K.,** 2009 – Polimorfizm wybranych genów i ich związek z jakością wieprzowiny. [W:] Genomika bydła i świni (red. Zwierzchowski L., Świtoński M.). Wyd. UP w Poznaniu, 167-185. **55. Koćwin-Podsiadła M., Zybert A., Krzęcio E., Antosik K., Sieczkowska H.,** 2009 – Biochemiczne mechanizmy kontrolujące jakość wieprzowiny. [W:] Genomika bydła i świni (red. Zwierzchowski L., Świtoński M.). Wyd. UP w Poznaniu, 80-94. **56. Koćwin-Podsiadła M., Przybylski W., Kaczorek S., Kurył J., Krzęcio E., Rozenek-Przybylska A.,** 1996 – Efektywność selekcji ukierunkowanej na poprawę jakości mięsa w oparciu o kryteria genetyczno-fizjologiczne na przestrzeni jednego pokolenia w stadzie świń pbz-23. Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Zootechnika 41 (297), 99-105. **57. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Antosik K., Pospiech E., Grześ B., Zybert A., Sieczkowska H.,** 2004 – Wstępne badania nad wyznaczeniem parametrów determinujących cechy mięsa wieprzowego kulinarnego i przetwórczego. Prac. Mat. Zoot. Zesz. Spec. 15, 233-234. **58. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Kurył J., Pospiech E., Grześ B., Zybert A., Sieczkowska H., Antosik K., Łyczyński A.,** 2004 – Wpływ form polimorficznych wybranych genów na mięsność oraz właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne tkanki mięśniowej. [W:] Postępy Genetyki Molekularnej Bydła i Trzody Chlewnej (red. Świtoński M.). Wyd. AR Poznań, 259-329. **59. Kołczak T.,** 2011 – Skład chemiczny mięsa – Woda. [W:] Mięso – Podstawy Nauki i Technologii (red. Pisula A., Pospiech E.). Wyd. SGGW, 142-149. **60. Korzeniewski B.,** 2006 – AMP deamination delays muscle acidification during heavy exercise and hypoxia. J. Biol. Chem. 281 (6), 3057-3066. **61. Kurył J., Wróblewski T.**, 1992 – The effect of halothane-sensitivity gene (Hal^n) in pigs on litter size, piglets live weight and rate of piglets survival to the age of 9-11 weeks. Anim. Sci. Pap. Rep. 9, 47-52. **62. Lambe N.R., Krzęcio-Nieczyporuk E., Koćwin-Podsiadła M., Bünger L.,** 2016 – Influence of major genes on meat quality. [W:] Meat Quality: Genetic and Environmental Factors (ed. Przybylski W., Hopkins D.), 287-331. **63. Li Y., Yu C., Li J., Zhang L., Gao F., Zhou G.**, 2017 – Effects of dietary energy sources on early postmortem muscle metabolism of finishing pigs. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 30 (12), 1764-1772. **64. Listrat A., Lebret B., Louveau I., Astruc T., Bonnet M., Lefaucheur L., Picard B., Bugeon J.**, 2016 – How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. Scientific World J. 2016, ID: 3182746. **65. Liu J., Schwartzkopf M., Arner A.**, 2018 – Rigor bonds cause reduced sarcomeric volume in skinned porcine skeletal muscle under PSE-like conditions. Meat Sci. 139, 91-96. **66. Liu J., Arner A., Puolanne E., Ertbjerg P.**, 2016 – On the water-holding of myofibrils: Effect of sarcoplasmic protein denaturation. Meat Sci. 119, 32-40. **67. Mancini R.A., Hunt M.C.,** 2005 – Current research in meat color. Meat Sci. 71 (1), 100-121. **68. Martínez-Miró S., Tecles F., Ramón M., Escribano D., Hernández F., Madrid J., Orengo J., Martínez-Subiela S., Manteca X., Cerón J.J.,** 2016 – Causes, consequences and biomarkers of stress in swine: an update. BMC Vet. Res. 12, 171. **69. Miller R.K.,** 2002 – Factors affecting the quality of raw meat. [W:] Meat Processing (ed. Kerry J., Kerry J., Ledward D.). Woodhead Publishing, 27-63. **70. Mlynek J., Imrich I., Kapelański W., Mlyneková E.**, 2013 – Effect of transport, rest period and temperature on pork quality from different countries. J. Cent. Eur. Agric. 14 (2), 751-757. **71. Møller J.K.S., Skibsted L.H.**, 2006 – Myoglobins: the link between discoloration and lipid oxidation in muscle and meat. Quim. Nova 29, 1270-1278. **72. O'Neill D.J., Lynch P.B., Troy D.J., Buckley D.J., Kerry J.P.**, 2003 – Effects of PSE on the quality of cooked hams. Meat Sci. 64 (2), 113-118. **73. Offer G., Knight P., Jeacocke R., Almond R., Cousins T., Elsey J., Parsons N., Sharp A., Starr R., Purslow P.P.**, 1989 – The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. Food Microstruct. 8 (1), 151-170. **74. Oliván M., Fernández-Suárez V., Díaz-Martínez F., Sierra V., Coto-Montes A., de Luxán-Delgado B., Peña R., Bassols A., Fàbrega E., Dalmau A., Velarde A.,** 2016 – Identification of biomarkers of stress in meat of pigs managed under different mixing treatments. Br. Biotechnol. J. 11 (1), 1-13. **75. Oliván M., González J., Bassols A., Díaz F., Carreras R., Mainau E., Arroyo L., Peña R., Potes Y., Coto-Montes A., Hollung K., Velarde A.**, 2018 – Effect of sex and RYR1 gene mutation on the muscle proteomic profile and main physiological biomarkers in pigs at slaughter. Meat Sci. 141, 81-90. **76. Orkusz A.**, 2015 – Czynniki kształtujące jakość mięsa drobiu grzebiącego. Praca przeglądowa. Nauki Inż. i Technol. 1 (16), 47-60. **77. Otsu K., Khanna V.K., Archibald A.L., MacLennan 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 (3), 744-50. **78. Palka K., Węsierska E.**, **Dikeman M., Devine C.**, 2014 – Physics and chemistry. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences – Second ed. (ed. Dikeman M., Devine C.), 404-409. **79. Park B.Y., Kim J.H., Cho S.H., Hah K.H., Lee S.H., Choi C.H., Kim D.H., Lee J.M., Kim Y.K., Ahn J.N., Hwang I.H.**, 2007 – Evidence of significant effects of stunning and chilling methods on pse incidences. Asian-Australas J. Anim. Sci. 20 (2), 257-262. **80. Pearce K.L., Rosenvold K., Andersen H.J., Hopkins D.L.**, 2011 – Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes – A review. Meat Sci. 89 (2), 111-124. **81. Pisula A.,** 2011 – Skład chemiczny mięsa – Barwa i barwniki mięsa. [W:] Mięso – podstawy nauki i technologii (red. Pisula A., Pospiech E.). Wyd. SGGW, 160-166. **82. Popovski Z.T., Tanaskovska B., Miskoska-Milevska E., Andonov S., Domazetovska S.**, 2016 – Associations of biochemical changes and maternal traits with mutation 1843 (C>T) in the RYR1 gene as a common cause for Porcine Stress Syndrome. BJMG 19 (2), 75-80. **83. Pösö A.R., Puolanne E.**, 2005 – Carbohydrate metabolism in meat animals. Meat Sci. 70 (3), 423-434. **84. Pospiech E., Grześ B.,** 2011 – Składniki chemiczne mięsa – Białka. [W:] Mięso – podstawy nauki i technologii (red. Pisula A., Pospiech E.). Wyd. SGGW, 149-159. **85. Pospiech E., Iwanowska A., Montowska M.,** 2011 – Wady mięsa i możliwości ograniczenia ich negatywnego wpływu na jakość. [W:] Mięso – podstawy nauki i technologii (red. Pisula A., Pospiech E.). Wyd. SGGW, 231-248. **86. Przybylski W., Jaworska D., Boruszewska K., Borejko M., Podsiadły W.**, 2012 – Jakość technologiczna i sensoryczna wadliwego mięsa wieprzowego. Żywn. Nauka Technol.

Jakość 1 (80) 116-127. **87. Qu D., Zhou X., Yang F., Tian S., Zhang X., Ma L., Han J.**, 2017 – Development of class model based on blood biochemical parameters as a diagnostic tool of PSE meat. Meat Sci. 128, 24-29. **88. Richards M.P.**, 2013 – Redox reactions of myoglobin. Antioxid. Redox Signaling 18 (17), 2342-2351. **89. Robergs R.A., Ghiasvand F., Parker D.**, 2004 – Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. Am. J. Physiol.: Regul., Integr. Comp. Physiol. 287 (3), R502-16. **90. Rojas J.E., Wilches M.A., Cepeda L.A., Garcés M.F., Suarez M.A., Baldrich R.M., Vélez C.A., Guerrero M.F., García M.R., Moreno I.H., Bravo S.B., Omelka R., Caminos J.E.**, 2008 – Molecular diagnostics of porcine stress syndrome susceptibility associated with the Arg615Cys mutation using real-time PCR with fluorescent hybridization probes. Rev. Colomb. Anestesiol. 36 (1), 11-18. **91. Rosenberg H., Pollock N., Schiemann A., Bulger T., Stowell K.**, 2015 – Malignant hyperthermia: a review. Orphanet J. Rare Dis. 10, 93. **92. Rosenvold K., Andersen H.J.**, 2003 – Factors of significance for pork quality – a review. Meat Sci. 64 (3), 219-237. **93. Rosenvold K., Lærke H.N., Jensen S.K., Karlsson A.H., Lundström K., Andersen H.J.**, 2001 – Strategic finishing feeding as a tool in the control of pork quality. Meat Sci. 59 (4), 397-406. **94. Schäfer A., Rosenvold K., Purslow P.P., Andersen H.J., Henckel P.**, 2002 – Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork. Meat Sci. 61 (4), 355-366. **95. Scheffler T.L., Gerrard D.E.**, 2007 – Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. Meat Sci. 77 (1), 7-16. **96. Scheffler T.L., Park S., Gerrard D.E.**, 2011 – Lessons to learn about postmortem metabolism using the AMPKγ3R200Q mutation in the pig. Meat Sci. 89 (3), 244-250. **97. Shen Q.W., Underwood K.R., Means W.J., McCormick R.J., Du M.**, 2007 – The halothane gene, energy metabolism, adenosine monophosphate-activated protein kinase, and glycolysis in postmortem pig longissimus dorsi muscle. J. Anim. Sci. 85 (4), 1054-1061. **98. Shen Q.W., Means W.J., Thompson S.A., Underwood K.R., Zhu M.J., McCormick R.J., Ford S.P., Du M.**, 2006 – Pre-slaughter transport, AMP-activated protein kinase, glycolysis, and quality of pork loin. Meat Sci. 74 (2), 388-395. **99. Sieczkowska H., Koćwin-Podsiadła M., Zybert A., Krzęcio E., Antosik K., Kamiński S., Wójcik E.**, 2010 – The association between polymorphism of PKM2 gene and glycolytic potential and pork meat quality. Meat Sci. 84 (1), 180-185. **100. Sieczkowska H., Andrzejczuk A., Zybert A., Krzęcio-Nieczyporuk E., Antosik K., Tarczyński K., Koćwin-Podsiadła M.**, 2017 – Przydatność kryteriów diagnozujących klasy jakości mięsa wieprzowego do szacowania cech przydatności kulinarnej mięsa. Rocz. Nauk. PTZ 13 (3), 53-62. **101. Sionek B., Przybylski W.**, 2015 – Wpływ czynników środowiskowych na poziom glikogenu w mięśniach zwierząt rzeźnych. Żywn. Nauka Technol. Jakość 1 (98), 35-48. **102. Strydom P.E., Jaworska D., Kołożyn-Krajewska D.**, 2016 – Meat quality of slaughter animals. [W:] Meat Quality: Genetic and Environmental Factors (ed. Przybylski W., Hopkins D.), 31-80. **103. Strzyżewski T., Bilska A., Krysztofiak K.**, 2008 – Zależność pomiędzy wartością pH mięsa a jego barwą. Nauka Przyr. Technol. 2 (2) #12. **104. Sybesma W., Eikelenboom G.**, 1978 – Methods of predicting pale, soft, exudative pork and their application in breeding programmes – A review. Meat Sci. 2 (2), 79-90. **105. Tereszkiewicz K., Molenda P., Choroszy K., Kulig Ł.**, 2017 – Warunki transportu i kondycja tuczników z dostaw bezpośrednich do zakładów ubojowych na Podkarpaciu. Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe 18 (6), 1574-1578. **106. Vermeulen L., van de Perre V., Permentier L., De Bie S., Verbeke G., Geers R.**, 2015 – Pre-slaughter handling and pork quality. Meat Sci. 100, 118-123. **107. Vermeulen L., van de Perre V., Permentier L., De Bie S., Verbeke G., Geers R.**, 2015 – Sound levels above 85dB pre-slaughter influence pork quality. Meat Sci. 100, 269-274. **108. Warner R.,** 2014 – Measurement of water-holding capacity and color: objective and subiective. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences (ed. Dikeman M., Devine C.), 164-171. **109. Warner R.,** 2016 – Meat: conversion of muscle into meat. [W:] Encyclopedia of Food and Health (ed. Caballero B., Finglas P.M., Toldrá F.), Academic Press, 677-684. **110. Warner R.D., Kauffman R.G., Greaser M.L.**, 1997 – Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. Meat Sci. 45 (3), 339-352. **111. Wilson G.G., van Laack R.L.J.M.**, 1999 – Sarcoplasmic proteins influence water-holding capacity of pork myofibrils. J. Sci. Food Agric. 79 (13), 1939-1942. **112. Wu S., Ibarra M.C.A., Malicdan M.C.V., Murayama K., Ichihara Y., Kikuchi H., Nonaka I., Noguchi S., Hayashi Y.K., Nishino I.**, 2006 – Central core disease is due to RYR1 mutations in more than 90% of patients. Brain 129 (6), 1470-1480. **113. Xiong Y.L.**, **Dikeman M., Devine C.,** 2014 – Protein functionality. [W:] Encyclopedia of Meat Sciences – Second ed. (ed. Dikeman M., Devine C.), 267-273. **114. Yu T.Y., Morton J.D., Clerens S., Dyer J.M.**, 2017 – Cooking-induced protein modifications in meat. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 16 (1), 141-159. **115. Zhu L.G., Brewer M.S.**, 1998 – Metmyoglobin reducing capacity of fresh normal, PSE, and DFD pork during retail display. J. Food Sci. 63 (3), 390-393. **116. Zimecki M., Artym J.**, 2004 – Wpływ stresu psychicznego na odpowiedź immunologiczną. Postęp. Hig. Med. Dośw. 58, 166-175. **117. Żelechowska E., Przybylski W., Jaworska D., Santé-Lhoutellier V.**, 2012 – Technological and sensory pork quality in relation to muscle and drip loss protein profiles. Eur. Food Res. Technol. 234 (5), 883-894.

Lipokalina-2 – potencjalny marker molekularny zdrowotności wymienia?

Joanna Pokorska, Dominika Kułaj, Andrzej Ochrem

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Instytut Nauk o Zwierzętach, Zakład Hodowli Bydła

Lata doskonalenia bydła mlecznego w kierunku zwiększonej wydajności mlecznej doprowadziły do nadprodukcji mleka i produktów mlecznych. Obecnie zainteresowanie konsumenta przenosi się na żywność o bardzo dobrej jakości. Aby otrzymywać mleko wysokiej jakości konieczne jest zapewnienie odpowiednich warunków środowiskowych utrzymywanym krowom oraz higienicznych warunków pozyskiwania tego surowca. Niespełnienie tych kryteriów może prowadzić do stanów zapalnych wymienia, które negatywnie wpływają na jakość mleka. Oprócz czynników środowiskowych, na zwiększenie odporności krów na stany zapalne mają wpływ czynniki genetyczne. Dlatego prowadzone są intensywne badania mające na celu identyfikację markerów genetycznych związanych ze stanem zdrowia wymienia, a w szczególności z odpornością na *mastitis* oraz takich, które oprócz poprawy zdrowotności wymienia będą korzystnie wpływały na cechy jakościowe mleka [2, 3, 16]. Takim markerem mogłaby się stać lipokalina-2.

Lipokalina-2 (LCN2) wchodzi w skład lipokalin – dużej grupy niewielkich, zewnątrzkomórkowych białek ludzkich, zwierzęcych i roślinnych o masie ok. 18-20 kDa [1, 5], które należą do nadrodziny kalicyn [10]. Zwierzęce lipokaliny to grupa bardzo zróżnicowanych białek, które charakteryzują się podobną budową trzeciorzędową oraz wysoce konserwatywną strukturą aminokwasową motywów (SCR – ang. *short conserved region*) [15]. Lipokaliny wykazują zdolność do wiązania i transportowania małych, hydrofobowych cząsteczek oraz charakteryzują się dużym zróżnicowaniem funkcjonalnym. Biorą udział w procesach regulacji starzenia się komórek, ich różnicowaniu oraz modelowaniu odpowiedzi immunologicznej [11]. Lipokalina-2 (LCN2, znana również jako NGAL – ang. *neutrophil*