УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ

Иван Н. Вићић

УТИЦАЈ *PRE-MORTEM* УСЛОВА НА ПОКАЗАТЕЉЕ СТРЕСА И КВАЛИТЕТ МЕСА ГОВЕДА

Докторска дисертација

Београд, 2025

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Ivan N. Vićić

INFLUENCE OF *PRE-MORTEM* CONDITIONS ON STRESS INDICATORS AND BEEF QUALITY

Doctoral dissertation

Belgrade, 2025.

МЕНТОРИ

Др **Нећељко Карабасил**, редовни професор
Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине

Др **Бојана Бановић Ђери**, виши научни сарадник
Универзитет у Београду, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Др **Драган Василев**, редовни професор
Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине

Др **Силвана Стајковић**, ванредни професор
Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине

Др **Игор Томашевић**, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

Датум одбране:________________

ЗАХВАЛНИЦА

Желим да изразим искрену захвалност свом ментору, великом господину, проф. др *Нeђељку Карабасилу*, на несебичној подршци, усмеравању и пре свега стрпљењу, не само током израде докторске дисертације, него кроз целокупни истраживачки пут. Захваљујући Вама изучих све што сам наумио.

Посебну захвалност дугујем др *Бојани Бановић Ђери*, ментору 2, на изучавању фине, молекуларне биологије, усмеравању и несебичном дељењу знања и искуства. Надам се да ће се биоинформатички и биостатистички путеви и даље укрштати, уз добру експресивност будућих резултата.

Велико хвала члановима комисије, проф. др *Драгану Василеву*, проф др. *Силвани Стајковић* и проф. др *Игору Томашевићу* на издвојеном времену и корисним саветима приликом обликовања докторске дисертације.

Пријатељу и колеги, др *Милошу Ж. Петровићу* велико хвала на помоћи приликом извођења експерименталног дела рада.

Желео бих да се захвалим колегама са Ветеринарског специјалистичког института Панчево, Научног института за ветеринарство Србије, Завода за млекарство, Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду на знању и искуству које сам стекао радећи са вама. Посебну захвалност дугујем Лабораторији за молекуларну биологију биљака, Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, мојој другој матичној институцији.

Хвала колективу Катедре за хигијену и технологију намирница на пруженој подршци, мотивацији и помоћи приликом израде ове докторске дисертације.

И на крају, највећу захвалност дугујем својој породици, на безусловној љубави, великој подршци и охрабрењу.

Хвала вам свима.

УТИЦАЈ *PRE-MORTEM* УСЛОВА НА ПОКАЗАТЕЉЕ СТРЕСА И КВАЛИТЕТ МЕСА ГОВЕДА

Кратак садржај:

Основни циљ истраживања је утврђивање услова пре клања говеда - од фарме, током транспорта, истовара и боравка у депоу и њиховог утицаја на показатеље стреса и одабране параметре квалитета меса, укључујући и испитивање зрења меса и мутација гена одговорних за размекшавање меса говеда. Истраживање је спроведено, на укупно 345 бикова, расе домаће шарено говече у типу сименталца, у две кланице комбинованог типа, намењене за клање говеда и свиња (А и Б) и једној кланици само за клање говеда (Ц). Преваленција трупова са повредама, као индикатора нарушене добробити је износила 40,6% (95% интервал поверења, ИП = 35,4-46,0). Утврђен је 2,94 пута већи ризик од појаве повреда код говеда која су купљена на пијаци у односу на говеда која су транспортована директно са фарми ($P = 0,0001$). Узимајући у обзир тип кланице, уочена је 6,86 вероватноћа присуства повреда код говеда на кланици А ($P = 0,0001$) и 4,76 вероватноћа на кланици Б ($P = 0,0001$) у односу на кланицу Ц, као референтну категорију. Од укупног броја утврђених повреда, 40,7% су биле тешке, захватајући мишићне делове и углавном локализоване на задњим деловима трупа. Вероватноћа појаве тежег облика повреде је била већа код говеда која су имала повреде веће од 16 cm у односу на говеда која имају мање повреде на трупу (однос вероватноће, ОВ = 3,10, 95% ИП = 1,42-6,78, $P = 0,005$).

Присуство типичног тамног, тврдог и сувог (DFD) меса је износило 34,1% (95% ИП = 27,8-40,8) и утврђено је на кланици А и Б, уз потпуно одсуство на кланици Ц. Фактори ризика који су утицали на развој DFD меса су били дужина транспорта, сезона и присуство повреда на трупу. Говеда транспортована на релацији краћој од 100 km, са боравком у депоу краћим од 3 часа су имала 2,67 пута већи ризик за развој DFD меса у односу на говеда чији је транпорт био дужи од 100 km, са боравком у депоу дужим од 3 сата ($P = 0,004$). Вероватноћа појаве DFD меса је била 5,01 пута већа током зиме ($P = 0,0001$) и 3,45 пута већа током пролећа ($P = 0,008$) у односу на летњу сезону. Као трећи препознати фактор ризика, са повредама на трупу шансе за развој DFD меса су биле 2,59 пута веће у односу на говеђе трупове без присутних повреда ($P = 0,003$). Утврђен је интерактивни ефекат дужине транспорта и сезоне на концентрацију глукозе ($P = 0,02$), лактат дехидрогеназе (LDH) ($P = 0,01$), аспартат аминотрансферазе (AST) ($P = 0,05$), протеина топлотног стреса (Hsp 70) ($P = 0,02$), магнезијума (Mg) ($P = 0,01$), Ц-реактивног протеина (CRP) ($P = 0,01$) и укупних протеина ($P = 0,01$) у крви говеда. Није потврђен заједнички ефекат дужине транспорта и сезоне са присуством повреда на трупу, као једног од показатеља нарушене добробити, на биохемисјке показатеље крви ($P > 0,05$). Концентрација глукозе ($P = 0,0001$), лактата ($P = 0,0001$), креатин киназе (CK) ($P = 0,02$), Mg ($P = 0,0001$), као и однос неутрофила и лимфоцита у крви ($P = 0,05$) су били повећани код говеда транспортованих на релацији краћој од 100 km са мање од 3 сата боравка у депоу у односу на говеда транспортована дуже од 100 km и верeменом проведеним у депоу дужим од 3 сата. С друге стране, утврђене су веће вредности аланин аминотрансферазе (ALT) ($P = 0,02$), AST ($P = 0,0001$), кортизола ($P = 0,0001$) и фибриногена ($P = 0,05$) у крви бикова чији је транспорт био дужи од 100 km. Током зиме, концентрација глукозе ($P = 0,001$), лактата ($P = 0,02$) и албумина ($P = 0,0001$) у крви је била највећа, док је концентрација фибриногена била најмања ($P = 0,0001$). Током лета вредности хематокрита ($P = 0,001$) и укупних протеина ($P = 0,0001$) крви испитиваних говеда су биле највеће. Током јесени, говеда су имала највећу концентрацију Mg ($P = 0,0001$) и кортизола ($P = 0,02$) у крви. Зима и пролеће, као најризичније сезоне за настанак DFD меса, су показале највећу концентрацију Hsp 70 протеина ($P = 0,0001$), као и однос неутрофила и лимфоцита (P = 0,004) у крви говеда. Применом модела вишеструке регресије, утврђено је да јединствени допринос предикцији pH^{24h} вредности меса дају лактат (P = 0,0001), Hsp 70 (P = 0,0001), ALT (P = 0,005), укупни протеини (P = 0,005), CRP (P = 0,008) и CK (P = 0,02), уз детерминацију варијансе зависне променљиве, pH^{24h} вредности меса у износу од 49%. Посматрајући класе квалитета испитаног меса, вредности способности везивања воде (drip $loss^{24h}$ % и drip $loss^{48h}$ %), као и боје меса (удела светлоће (L*) и црвене боје (a*)) су биле уједначене за нормално и атипично DFD месо, са pH вредношћу 5,8-6,0 у односу на типично DFD месо.

Додатно, анализом 95 узорака меса говеда, пореклом из кланице Ц, испитан је утицај три полиморфизма калпаин (CAPN 316, 530 и 4751) гена и пет полиморфизама калпастатин (CAST I, II, IV, 2870 и 2959) гена на параметре квалитета меса током двонедељног зрења. Hardy-Weinberg-ов еквилибријум је био нарушен код CAPN 316 и CAPN 4751 полиморфизма (P < 0,05), уз евидентно доминантно присуство непожељног алела G CAPN 316 полиморфизма, са учесталошћу од 96% у испитиваној популацији говеда. Утврђена је асоцијативност CAST I, II и 2959 полиморфизма са текстуром, односно мекоћом меса (P = 0,04), при чему су CAST I и II полиморфизми утицали и на pH вредност (P = 0,03), способност везивања воде (P = 0,02) и боју меса (P = 0,02) током зрења. CAST IV полиморфизам је имао утицаја на pH вредност и способност везивања воде, док CAST 2870 само на способност везивања воде. Алел C CAST I, алел A CAST II и алел G CAST 2959 полиморфизма чине пожељне алеле код испитиваних говеда, испољавајући позитивне ефекте на параметре квалитета меса током процеса зрења.

Резултати истраживања указују на то да су унапређење система објеката и опреме на кланицама, избегавање транспорта говеда са пијаца, те континуирана едукација радника у погледу добробити животиња од кључног значаја за квалитет меса, примарно кроз одсуство повреда на трупу и појаве DFD меса. Интегративни приступ, који подразумева идентификацију и примену генетичких маркера повезаних са параметрима квалитета меса у оквиру селекционог процеса, у комбинацији са сталним побољшањем услова средине и добробити животиња, омогућава добијање безбедније и квалитетније хране.

Кључне речи: фактори ризика, повреде, DFD месо, полиморфизам, зрење меса.

Научна област: Ветеринарска медицина

Ужа научна област: Хигијена и технологија меса

УДК број:

INFLUENCE OF *PRE-MORTEM* CONDITIONS ON STRESS INDICATORS AND BEEF QUALITY

Abstract:

The main objective of the research was to determine the conditions before the slaughter of cattle - from the farm, during transport, unloading, and lairage and their impact on stress indicators and selected parameters of meat quality, including the examination of meat aging and mutations of genes responsible for tenderisation of beef meat. The research was conducted on 345 bulls, domestic Simmental crossbreed, in two combined slaughterhouses intended for slaughtering cattle and pigs (A and B) and one slaughterhouse only for cattle (C). The prevalence of bruised carcasses, as an indicator of impaired welfare, was 40.6% (95% confidence interval, CI = 35.4-46.0). A 2.94-fold risk of bruising was found in cattle bought at the market than in cattle transported directly from the farm (P = 0.0001). Considering the type of slaughterhouse, a 6.86 likelihood of bruising was observed in cattle at slaughterhouse A (P = 0.0001) and a 4.76 likelihood at slaughterhouse B (P = 0.0001) compared to slaughterhouse C, as the reference category. Of the total number of bruises found, 40.7% were severe, affecting muscular parts and mainly localized in the hindquarters. The likelihood of developing a more severe bruise was higher in cattle with bruises greater than 16 cm than those with more minor injuries (odds ratio, OR = 3.10, 95% CI = 1.42-6.78, P = 0.005).

The occurrence of typical dark, firm, and dry (DFD) meat was 34.1% (95% CI = 27.8-40.8) and was found in slaughterhouses A and B, with a complete absence in slaughterhouse C. Risk factors that influenced the development of DFD meat were the transport length, season and the presence of bruises on the carcass. Cattle transported less than 100 km, with a lairage time less than 3 hours, had a 2.67-fold higher risk of developing DFD meat than cattle whose transport was longer than 100 km, with lairage longer than 3 hours (P = 0.004). The probability of DFD meat was 5.01 times higher during the winter (P = 0.0001) and 3.45 times higher during the spring (P = 0.008) compared to the summer season. As a third identified risk factor, carcasses with bruises were 2.59 times more likely to develop DFD meat than those carcasses without bruises (P = 0.003). An interactive effect of transport length and season on the concentration of glucose (P = 0.02), lactate dehydrogenase (LDH) (P = 0.01), aspartate aminotransferase (AST) (P = 0.05), heat shock protein (Hsp 70) (P = 0.02), magnesium (Mg) (P = 0.01), C-reactive protein (CRP) (P = 0.01) and total protein (P = 0.01) in the blood of cattle was determined. The interactive effect of transport length and season with bruises on the carcasses, as the indicator of impaired welfare, on biochemical blood parameters was not confirmed ($P > 0.05$). The concentration of glucose (P = 0.0001), lactate (P = 0.0001), creatine kinase (CK) (P = 0.02), Mg (P = 0.0001), and the ratio of neutrophils to lymphocytes in the blood (P = 0.05) were increased in cattle transported less than 100 km with less than 3 hours of lairage compared to cattle transported more than 100 km and with lairage time longer than 3 hours. On the other hand, higher values of alanine aminotransferase (ALT) (P = 0.02), AST (P = 0.0001), cortisol (P = 0.0001), and fibrinogen (P = 0.05) were found in the blood of bulls whose transport was longer than 100 km. During winter, the concentration of glucose (P = 0.001), lactate (P = 0.02), and albumin (P = 0.0001) in the blood was the highest, while the concentration of fibrinogen was the lowest (P = 0.0001). During summer, the values of hematocrit (P = 0.001) and total protein (P = 0.0001) in the blood of the examined cattle were the highest. During autumn, the cattle had the highest concentration of Mg (P = 0.0001) and cortisol (P = 0.02) in the blood. Winter and spring, the riskiest seasons for DFD occurrence, showed the highest concentration of Hsp 70 protein (P = 0.0001) and the ratio of neutrophils and lymphocytes (P = 0.004) in the cattle blood. Using a multiple regression model, it was determined that lactate (P = 0.0001), Hsp 70 (P = 0.0001), ALT (P = 0.005), total protein (P = 0.005), CRP (P = 0.008) and CK (P = 0.02) made a unique contribution to the prediction of pH^{24h} values, with a determination of the variance of the dependent variable, pH^{24h} values, in the amount of 49%. Considering the quality classes of the examined meat, the values of water holding capacity (drip $loss^{24h}$ % and drip $loss^{48h}$ %), as well as meat color (lightness (L*) and redness (a*)) were uniform for meat of normal value and atypical DFD meat, with a pH value of 5.8-6.0 compared to typical DFD meat.

Additionally, the analysis of 95 beef samples from slaughterhouse C examined the influence of three polymorphisms of the calpain (CAPN 316, 530, and 4751) gene and five polymorphisms of the calpastatin (CAST I, II, IV, 2870, and 2959) gene on meat quality parameters during two-week ageing. Hardy-Weinberg equilibrium was violated for the CAPN 316 and CAPN 4751 polymorphisms ($P < 0.05$), with an evident dominant presence of the undesirable G allele of the CAPN 316 polymorphism, with a frequency of 96% in the studied cattle population. The association of CAST I, II, and 2959 polymorphisms with meat texture, i.e., tenderness ($P = 0.04$), was determined, with CAST I and II polymorphisms also influencing pH ($P = 0.03$), water holding capacity ($P = 0.02$) and meat color ($P = 0.02$) during maturation. CAST IV polymorphism affected pH and water holding capacity, while CAST 2870 only on water holding capacity. Allele C CAST I, allele A CAST II, and allele G CAST 2959 polymorphisms were the preferred alleles in the tested cattle, exhibiting positive effects on meat quality parameters during maturation.

The research results indicate that improving slaughterhouse facilities and equipment, avoiding cattle transport through markets, and continuous education of workers regarding animal welfare is crucial for meat quality, primarily through the absence of carcass bruises and the occurrence of DFD meat. An integrative approach, which involves identifying and applying genetic markers associated with meat quality parameters within the selection process, combined with continuous improvement of environmental conditions and animal welfare, allows for the production of safer and higher-quality food.

Keywords: risk factors, bruises, DFD meat, polymorphism, meat ageing.

Scientific field: Veterinary medicine

Scientific subfield: Meat hygiene and technology

UDK number:

САДРЖАЈ

1. УВОД

Последњих деценија, захтеви тржишта за високо вредним протеинима анималног порекла су у константном порасту, са предикцијом производње 388 милиона тона меса 2033 године, на глобалном нивоу (*OECD* и *FAO*, 2024). Квалитет меса се може посматрати кроз нутритивни, сензорни и технолошки аспект производње. Интегрални део квалитета меса чини добра хигијенска пракса на линији клања, односно током обраде меса, примарно кроз одсуство патогених микроорганизама, односно редукцију степена контаминације аеробним и факултативно анаеробним микроорганизмима, чиме се постиже одрживост производње меса и заокружује концепт Јединственог здравља. Са аспекта потрошача, боја меса представља најзначајније својство меса приликом доношења одлуке о куповини намирнице, док текстура, примарно мекоћа меса, одражава ниво перцепције задовољства након обраде, односно кувања (*Matarneh* и сар., 2021). Побољшањем параметара квалитета меса, индустрија настоји повећати и принос меса, одржавајући способност везивања воде меса у границама могућности мишићног ткива.

Током производног процеса, од фарме, током транспорта и боравка на кланици, говеда бивају изложена различитим непријатним ситуацијама, које доводе до нарушавања добробити и умањивања вредности параметара квалитета меса (*Sullivan* и сар., 2022; *Romero* и сар., 2013; *da Costa* и сар., 2012). Објекти и опрема на фарми, обученост радника, као и сами поступци са животињама у великој мери утичу на понашање јединки и њихову могућност да се прилагоде на измењене услове спољашње средине (*Grandin* и *Shivley*, 2015). Услови и поступци током транспорта, ограничен простор, непозната средина, дужина транспорта, климатски услови су само неки од фактора који доводе до измењеног хомеостатског одговора, испољавања страха, дехидратације и глади, повећане физичке активности, падова и повређивања јединки (*Brunel* и сар., 2018; *Chulayo* и сар., 2016; *Teke* и сар., 2014; *Schwartzkopf-Genswein* и сар., 2012). Неадекватни услови средине доводе до стресне реакције организма, потрошње енергетских резерви у виду гликогена и последичних биохемијских алтерација постморталних, метаболичких процеса током трансформације мишића у месо, те развоја нарушених параметара квалитета меса, кроз појаву тамног, тврдог и сувог (*Dark, Firm and Dry*, DFD) меса (*Matarneh* и сар., 2021; *Teke* и сар., 2014; *Lomiwes* и сар., 2014). Поред DFD меса, појава повреда на труповима говеда директно осликава стање нарушене добробити, најчешће као последица неадекватних поступака са животињама непосредно пре клања, односно током транспорта, чиме се утиче на одрживост меса и умањује економска исплативост производње (*Huertas* и сар., 2015).

Поред услова средине, генетски потенцијал индивидуе је од посебног значаја за унапређење квалитета говеђег меса, превасходно кроз побољшање ензимске активности протеолитичког система мишића током процеса размекшавања меса (*Zalewska* и сар., 2021; *Węglarz* и сар., 2020). С тога, ово истраживање је усмерено ка утврђивању услова пре клања домаћег шареног говечета на територији Републике Србије и њиховог утицаја на показатеље стреса и одабране параметре квалитета меса, укључујући и испитивање зрења меса и мутација гена одговорних за размекшавање меса.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Квалитет меса – појам

Појам квалитет меса подразумева низ карактеристика, које месо као сировина или финални производ треба да садржи, како би се задовољиле потребе потрошача с једне стране, односно увећао профит индустрије с друге стране. Параметри квалитета меса се могу посматрати кроз четири категорије: сензорне, технолошке и нутритивне карактеристике меса, као и аспект безбедности, примарно кроз одсуство патогених микроорганизама. Сензорна својства меса се односе на боју, текстуру, мирис, укус и сочност. Технолошки аспект подразумева праћење следећих параметара квалитета меса: pH вредност, способност везивања воде, као и однос протеина, масти и колагена у месу (*Matarneh* и сар., 2021). Месо је, у нутритивном смислу, добар извор протеина, минерала и витамина, превасходно есенцијалних аминокиселина, масних киселина, гвожђа, цинка, селена, витамина Д, А и Б комплекса (*Geletu* и сар., 2021; *Rustan* и *Drevon*, 2005; *Rendle u Keeley*, 1998). Леуцин, изолеуцин, лизин, метионин, цистин, фенилаланин, треонин, триптофан, валин, аргинин и хистидин чине препознате есенцијалне аминокиелине протеина говеђег меса (*Geletu* и сар., 2021; *Olaoye*, 2011). Комплексност развоја технолошких карактеристика меса, у првом реду pH вредности, њихова испреплетаност и даљи утицај на остале параметре квалитета меса, спопсобност везивања воде, боју и текстуру су од посебног значаја за дефинисање квалитета меса као примарне сировине, односно крајњег финалног производа од меса (*Matarneh* и сар., 2021).

2.1.1. Пад pH вредности и конверзија мишића у месо

Након искрварења, долази до низа алтерација у метаболичким путевима, као последица прекида циркулације, допремања кисеоника и хранљивих материја до нивоа ћелије. Првих неколико минута током искрварења, кисеоник који је везан за миоглобин бива искоришћен за продукцију аденозин-трифосфата (АТР), односно одржавање енергетског статуса, кроз процес окдисативне фосфорилације (*England* и сар., 2017; *Pösö* и *Puolanne*, 2005). Студије указују да око 25% резидуалног кисеоника бива присутно у мишићима два сата након клања, одржавајући систем аеробне гликолизе, али на минималном нивоу (*Zhai* и сар., 2020; *England* и сар., 2018). Услед недостатка кисеоника, долази до активације анаеробног метаболизма у мишићима, уз синтезу два молекула АТР-а, који одржава контрактилну способности мишићне ћелије (*Matarneh* и сар., 2021). За развој и одржавање анаеробног метаболизма неопходно је константно присусво супстрата, у виду гликогена. Поред АТР-а, стварају се два молекула водоника и два молекула лактата. Како је прекинута циркулација, сви производи метаболизма бивају задржани на нивоу мишићне ћелије. Накупљање молекула лактата и водоника, током времена доводи до пада степена киселости мишића, од почетне pH вредности 7,0-7,2 одмах након клања, до оптималних 5,5-5,8 код охлађених трупова, 24-48 часова након клања (*Matarneh* и сар., 2023). У којој мери ће доћи до идеалног пада pH вредности зависи од дужине трајања анаеробног метаболизма, односно количине присутног гликогена у мишићима. Сматра се да је концентрација гликогена око 53 µmol/g сасвим довољна за развој нормалних pH вредности меса постмортално (*England* и сар., 2016; *Henckel* и сар., 2002). Ензим гликолизе, фосфофруктокиназа (PKF) је регулисана механизмом повратне спреге, директно падом pH вредности. Снижавањем степена киселости на 5,9, умањује се PKF активност, док се са постизањем pH вредности од 5,5 ензим у потпуности инактивира, чиме се означава терминација постморталног метаболизма (*England* и сар., 2016; *England* и сар., 2014).

Ниво, односно концентрација гликогена у мишићима код животиња зависи од низа фактора. Разлике су евидентне, у зависности од врсте, расе, старости, пола, начина исхране, као и услова под којима се јединке држе током узгоја и каснијег това (*Clinquart* и сар., 2022). Код говеда су, за разлику од свиња и живине, у мишићима више заступљена спора оксидативна влакна, те је самим тим концентрација гликогена знатно мања (*Clinquart* и сар., 2022; *Ferguson* и *Gerrard*, 2014). Посматрајући говече као јединку, под утицајем генетичких фактора, разлике у уделу спорих оксидативних и брзих гликолитичких мишићних влакана могу постојати унутар различитих група мишића трупа (*Ferguson* и *Gerrard*, 2014). Гликолитички потенцијал, поред генетичких фактора може зависити од начина исхране, заступљености удела кабасте и концетроване хране током товног периода (*Ferguson* и *Gerrard*, 2014; *Wicks* и сар., 2019). Међутим, иако је исхрана концетратима указала на већи гликолитички потенцијал, мале варијације су биле евидентне код говеда на испаши, уз постизање оптималне pH вредности, 5,6 након хлађења меса (*Wicks* и сар., 2019). Пол може утицати на развој pH вредности меса, због изразитог темперамента бикова, који је праћен убрзаном деплецијом гликогена у мишићима пре клања и последично краћим и слабијим постморталним метаболизмом (*Clinquart* и сар., 2022; *Monin*, 1991). Надаље, услови и поступци са говедима пре клања могу допринети убрзаној потрошњи гликогена, немогућности његове надокнаде под одређеним условима, и последичном развоју меса слабијег квалитета (*Carrasco-García* и сар., 2020).

2.1.2. Способност везивања воде меса

Вода чини око 75% садржаја мишића и представља један од кључних фактора испуњавања сензорних и функционалних карактеристика меса (*Huff-Lonergan* и *Lonergan*, 2005). Кроз сензорни аспект, повећава се принос меса, уз побољшање текстуре, сочности и боје меса. Функционална својства се односе на финалне производе од меса, при чему поступак емулзификације и формирање гела зависе од количине воде у месу (*Qiao* и сар., 2001; *Monin* и *Sellier*, 1985). Вода се у мишићима налази у три форме, као везана, имобилизована и слободна фракција, у процентуалном односу 5%, 85% и 10%, респективно (*Matarneh* и сар., 2023). Везана вода се односи на молекуле воде који су чврсто везани за протеине мишића, јонским интеракцијама, те ју је тешко истиснути из меса применом спољашњих сила (*Pearce* и сар., 2011). Имобилизована вода се налази у миофибриларном простору, унутар танких филамената као и између танких и дебелих миофиламената (*Honikel* и сар., 1986). Ова форма воде је под највећим утицајем биохемијских и метаболичких процеса током конверзије мишића у месо. Позната је чињеница да су протеини меса негативно наелектрисани, те са падом pH вредности и њеним приближавањем изоелектричној тачки, која за већину протеина меса је мања од 5,4, долази до губитка електричног набоја, смањења миофибриларних простора и последично већег губитка воде (*Matarneh* и сар., 2023; *Guignot* и сар., 1993). С друге стране, при pH вредности изнад 5,8, протеини меса задржавају негативни набој, омогућавајући већу способност везивања воде меса, кроз веће задржавање дате фракције воде у међућелијским просторима (*Matarneh* и сар., 2021). Слободна вода се налази у међућелијском простору, везана слабим капиларним силама, те се лако губи под дејством било које силе.

2.1.3. Боја меса

Хронолошки посматрано, боја меса представља најзначајније својство меса приликом доношења одлуке о куповини намирнице (*Clinquart* и сар., 2022; *Matarneh* и сар., 2021; *Suman* и *Joseph*, 2013). Концентрација и редокс потенцијал хем пигмента утиче на испољавање боје меса. Најзаступљенији пигмент, миоглобин чини 90% хем пигметама меса, чија концентрација зависи од врсте, пола, старости, локализације и функције мишића (*Mancini* и *Hunt*, 2005). Интензитет боје је највећи код говеда у односу на свиње и живину, код мушких животиња, као и током старења (*Cho* и сар., 2015; *Kim* и сар., 2012; *Franco* и сар., 2011; *Węglarz* и сар., 2010). Преосталих 10% пигмената меса чине хемоглобин и цитохроми. Постмортални пад pH вредности доприноси оксидо-редукционим процесима хем пигмената, што уз количину слободне воде у месу, дефинише интезитет боје, као својства свежине и прихватљивости меса (*Mancini* и *Hunt*, 2005; *Honikel* и сар., 1986).

2.1.4. Текстура меса

Текстура меса, након боје, представља значајан фактор квалитета меса за потрошача, кроз аспект перцепције задовољства након обраде, односно кувања. Низ карактеристика дефинише текстуру, у првом реду мекоћа, затим чврстина, жвакљивост и кохезивност (*Bourne*, 2002). На мекоћу, као најзначајнији параметар текстуре меса, утиче количина колагена, величина саркомера и дужина протеолитичког процеса током постморталног периода (*Wheeler* и сар., 2000). Код старијих животиња, месо постаје жилавије, због растворљивости колагена, ојачавања ковалентних веза молекула колагена и сходно томе веће температурне стабилности (*Lepetit*, 2007; *Shorthose* и *Harris*, 1990). Два супротна процеса, која се одигравају у мишићима, а чији је интезитет највећи током 24-часовног хлађења, јесу rigor mortis и протеолиза. Губитком ATP-a, актин и миозин стварају нераскидиву везу, при чему долази до скраћења саркомера. Процес укочености траје све док протеолитички систем не разложи структурне протеине и тиме наруши њихов интегритет (*Purslow* и сар., 2021). Два технолошка поступка хлађења могу утицати на скраћивање саркомера. Уколико не наступи rigor mortis, а температура меса падне испод 10-12 °C, долази до превеликог ослобођања калцијума у међућелијске просторе, повећане контрактилности и појаве скраћених саркомера, тзв. „cold-shortening“. С друге стране, уколико се јави нагли пад pH вредности, испод 6,0 при температури меса изнад 35°C, такође долази до скраћења саркомера, „heat-shortening“, с тим што је ова појава нешто ређа код говеда (*Saleem* и *Majeed*, 2014; *Ertbjerg* и *Puolanne*, 2017). Једно од објашњења утицаја скраћених саркомера на развој жилавијег меса лежи у чињеници да се, просторно посматрано, смањује површина деловања ензимског система разлагања протеина. Централну улогу у процесу размекшавња меса игра протеолитички систем кога чине три елемента: калпаини/калпастатин, катепсини и каспазе (*Purslow* и сар., 2021). Калпаини, као неутралне пептидазе имају највећи допринос у размекшавању меса, кроз разлагање структурних протеина мишића, док је улога катепсина као носиоца апоптозе и каспаза, односно серин протеиназа знатно мања (*Ouali* и сар., 2013; *Koohmaraie*, и *Geesink*, 2006). Сложености добијања мекшег меса доприноси моменат активације ензима, њихова активност током времена, инактивација уз процес деградације ензима одговорних за протеолизу меса (*Purslow* и сар., 2021; *Dransfeld*, 1994). Овоме, надаље доприноси и pH вредност меса, са чијим повећањем се смањује ензимска активност протеолитичког система мишића (*Matarneh* и сар., 2021).

2.2. Утицај услова средине и развој мана меса

Током производног процеса, од фарме, током транспорта и боравка на кланици, говеда бивају изложена различитим непријатним ситуацијама, које доводе до нарушавања добробити и умањивања вредности параметара квалитета меса (*Sullivan* и сар., 2022; *Romero* и сар., 2013; *da Costa* и сар., 2012). Објекти и опрема на фарми, обученост радника, као и сами поступци са животињама у великој мери утичу на понашање јединки и њихову могућност да се прилагоде на измењене услове спољашње средине (*Grandin* и *Shivley*, 2015). Услови и поступци током транспорта, ограничен простор, непозната средина, дужина транспорта, климатски услови су само неки од фактора који доводе до измењеног хомеостатског одговора, испољавања страха, дехидратације и глади, повећане физичке активности, падова и повређивања јединки (*Brunel* и сар., 2018; *Chulayo* и сар., 2016; *Teke* и сар., 2014; *Schwartzkopf-Genswein* и сар., 2012). Боравак говеда у депоу на кланици омогућава им да надоместе изгубљену енергију, рехидрирају се и одморе од исцрљујућег траспорта. Дужина боравка у депоу је предмет свакодневне дискусије. Прекратак боравак у депоу може стварати проблем током евисцерације, због могуће контаминације на линији клања услед препуњеног бурага (*Ferguson* и сар., 2007). Са друге стране, предугачак боравак, такође може имати негативне последице по квалитет трупова и меса, услед дугог одсуства хране и воде, мешања животиња са различитих локација, као и могућности унакрсне контаминације различитим патогеним микроорганизмима (*Romero* и сар., 2013). Немогућност адаптације на дате услове пре клања доводи до аутономног одговора организма, измењеног метаболичког статуса индивидуе, с циљем одржавања хомеостатског баланса организма (*Losada-Espinosa* и сар., 2018; *King* и сар., 2006). Испољава се реактивност организма кроз појачан рад срца и високу фреквенцију дисања, праћену измењеним бихејвиоралним облицима понашања, у зависности од темперамента (*Pighin* и сар., 2013; *Bourguet* и сар., 2010; *Averós* и сар., 2008; *Van de Water* и сар., 2003). Активира се систем хипоталамуса-хипофизе-надбубрежне жлезде, уз ослобађање кортикотропног хормона, односно катехоламина и кортизола (*Romero* и сар., 2017; *Hemsworth* и сар., 2011; *Ferguson* и *Warner*, 2008). У циљу задовољавања енергетских потреба организма, долази до разлагања гликогена јетре и мишића, повећане концетрације глукозе у крви, те у зависности од дужине трајања стимулуса, може доћи до хипофагије и губитка телесне масе (*Rabasa* и *Dickson*, 2016). Поред кортизола и катехоламина, у крви се повaћавају концетрације различитих ензима и пептида (*Romero* и сар., 2017; *Francisco* и сар., 2015; *Alende* и сар., 2014; *Tadich* и сар., 2005). Услед оштећења мишића, због различитих физичких инзулта, долази до повећане пермеабилности ћелија и повећане концетрације креатин киназе у крви (*Simova* и сар., 2016; *Mpakama* и сар., 2014). Деловањем јаче механичке силе, најчешће активношћу радника, долази до руптуре ткива мишића и каснијег одржавања нарушене добробити кроз видљиве повреде на труповима говеда (*Strappini* и сар., 2009). Повреде, поред умањеног квалитета трупа, могу утицати и на одрживост меса услед неадекватне хигијенске праксе на линији клања (*Cruz-Monterrosa* и сар., 2017).

Као последица потрошње гликогена у мишићима, изазване превасходно нарушеним условима и поступцима са животињама непосредно пре клања, и немогућности пада pH вредности меса током процеса хлађења, односно брзим падом pH вредности због перакутног стреса, долази до развоја мана квалитета меса, у виду тврдог, сувог и тамног (DFD) меса, односно бледог, меког и водњикавог (PSE) меса, респективно (*Matarneh* и сар., 2021; *Lomiwes* и сар., 2014). DFD месо се најчешће као мана, јавља код говеда, услед нарушене добробити, односно негативних услова средине током примарне производње (*Matarneh* и сар., 2023). Процес анаеробне гликолизе је најчеће заустављен у тренутку када је pH вредност меса изнад 6,0, што је одлика типичног DFD меса (*Matarneh* и сар., 2021). Услед високе pH вредности, долази до већег задржавања воде у међућелијским просторима, праћеним изразито тамном бојом меса, што знатно умањује вредност сировине, нарочито са аспекта потрошача. pH вредност директно утиче на редокс потенцијал миоглобина. Са снижавањем pH вредности меса, долази до конформационе нестабилности миоглобина, што погодује лакшој оксигенацији и тиме светлијој боји меса (*Bekhit* и *Faustman*, 2005; *Seideman* и сар., 1984). Метмиоглобиин који се формира код DFD меса, постаје знатно стабилнији при pH вредности изнад 6,0. Појам жилавог меса приписује се чињеници ниске активности калпаина изоформе I и катепсина Б при pH вредности изнад 6,0 (*Lomiwes* и сар., 2014). С друге стране, појава PSE меса је карактеристична за свиње и живину, те настаје као последица перакутног стреса, услед пребрзог накупљања лактата на нивоу мишића одмах након клања, што условљава брз пад pH вредности, испод 5,5 (*Matarneh* и сар., 2021).

2.3. Утицај генетичких фактора током зрења меса

Након завршеног поступка хлађења, месо се, као сировина, у свежем стању може дистрибуирати на тржиште, или даље подвргавати поступцима тзв. влажног зрења, као најчешћој форми зрења меса. Током влажног зрења, комади меса, вакуум упаковани или у комбинацији са различитим концентрацијама гасова се чувају у контролисаним условима (*Lavieri* и *Williams*, 2014). Одрживост меса зависи од низа фактора: нивоа контаминације свежег меса микроорганизмима, почетне pH вредности, начина паковања и температуре складиштења (*Kaur* и сар., 2021; *Doulgeraki* и сар., 2012). Повећан број микроорганизама, уз pH вредност изнад 5,8 и варирање температуре складиштења, погодује бржем умножавању аеробних микроорганизама и последично квару меса током зрења (*Holman* и сар., 2022; *Kaur* и сар., 2021; *Pennacchia* и сар., 2011). Код традиционално вакуум упакованог меса, током прве две недеље зрења, присутан је резидуални кисеоник, омогућавајући раст и размножавање аеробних микроорганизама, уз израженији диверзитет присутног микробиома (*Duran* и *Kahve*, 2020; *Varnam* и *Sutherland*, 1995). Након датог периода, предоминантност иде у корист бактерија млечне киселине, чији диверзитет, у зависности од температуре складиштења, доводи до стварања одређених метаболита, дајући карактеристична сензорна својства месу продуженог зрења (*Rovira* и сар., 2023).

Зрењем меса, продужава се процес размекшавања, односно протеолизе, при чему се стварају секундарни метаболити који дају специфичну арому, мирис и укус приликом топлотне обраде меса (*Holman* и сар., 2022). Калпаини, протеолитички ензими и њихов ендогени инхибитор калпастатин чине најзначајније факторе током зрења меса. Варијације у генима задуженим за њихову функционалност могу утицати на ензимску активност и самим тим на квалитет меса, односно степен размекшавања. Код говеда, најчешће испитиване промене на генима су биле дефинисане кроз полиморфизам појединачног нуклеотидног пара (SNP), односно супституције нуклеотида калпаин (CAPN), односно калпастатин (CAST) гена које доводе до функционалне измене аминокиселина датих протеина. У одређеним случајевима, у зависности од локације у геному, SNP не доводи до измене амонокиселинског састава протеина, уз претпоставку о могућој корегулационој улози са другим функционалним полиморфизмима (*Coria* и сар., 2018; *Robert* и *Pelletier*, 2018). Без обзира на улогу генетике на процес размекшавања меса, и даље се сматра да епигенетички утицај, односно услови средине доприносе у већој мери варијабилности дате особине меса, са уделом чија вредност досеже и до 60% (*Kostusiak* и сар., 2023; *Bernard* и сар., 2007).

2.3.1. Калпаини

У нормалним, физиолошким условима, калпаини и њихов ендогени инхибитор калпастатин учествују у процесима раста и диференцијације мишићних ћелија, одржавајући хомеостатске механизме (*Węglarz* и сар., 2020). Постмортално, протеолитичка функција им се наставља, кроз процес трансформације мишића у месо и даљим размекшавањем меса током процеса зрења. Фамилију калпаина чине три изоформе протеина: μ-калпаин (CAPN 1), m-калпаин (CAPN 2) и ткивно специфични (CAPN 3). За активацију анзима је неопходна довољна концентрација калцијумових јона: за CAPN 1 10-40 μM, док за CAPN 2 знатно већа концентрација, 1-2 mM (*Calvo* и сар., 2014; *Arrington* и сар., 2006; *Goll* и сар., 2003). С тога се CAPN 1 изоформа активира током раних стадијума зрења, док је активност CAPN 2 ензима израженија у каснијим фазама матурације меса (*Kostusiak* и сар., 2023; *Kurebayashi* и сар., 1993; *Jeacocke*, 1993). Улога ткивно-специфичног CAPN 3 ензима, познатог као p94, је и даље предмет истраживања (*Węglarz* и сар., 2020; *Lian* и сар., 2013). Поред калцијума, активност ензима је регулисана и присуством фосфолипида, као и активношћу калпастатина. Улога калпаина се одражава кроз разлагање протеина цитоскелета и интермедијалних филамената, чиме се нарушава интегритет мишићне ћелије (*Bhat* и сар., 2018).

CAPN 1 ген, одговоран за функционалност истоимене форме ензима се налази на хромозому 29 и састоји се од 22 егзона и 21 интрона (*Juszczuk-Kubiak* и сар., 2004; *Page* и сар., 2002). CAPN 2 ген је локализован на хромозому 16 и чине га 21 егзон и 20 интрона. Низ студија указује на позитивну асоцијативност тачкастих мутација CAPN 1 гена са процесом размекшавања меса (табела 2.1.) (*Węglarz* и сар., 2020). Поред тога утврђен је и ефекат датих полиморфизама на друге параметре квалитета меса, као што су мраморираност и боја меса (*Li* и сар., 2013; *Cheong* и сар., 2008).

Табела 2.1. Повезаност CAPN полиморфизама са текстуром меса код говеда.

Полиморфизам	Локација	Супституција	Пожељни алел/генотип	Референце
CAPN 316	егзон 9	G>C	алел C	*Page* и сар., 2002; Corva и сар., 2007; *Tait* и сар., 2014.
CAPN 530	егзон 14	A>G	алел G	*Page* и сар., 2002.
CAPN 947	интрон 1	C>G	генотип CC	*Morris* и сар., 2006.
CAPN 3553	интрон 4	A>G	генотип AA	*Hou* и сар., 2011.
CAPN 3717	егзон 5	A>G	алел G	*Shi* и сар., 2011.
CAPN 4751	интрон 17	C>T	генотип TT	*Curi* и сар., 2009.
CAPN 6545	интрон 17	C>T	генотип TT	*Curi* и сар., 2009.

2.3.2. Калпастатин

Калпастатин представља ендогени инхибитор калпаина, чија активност такође зависи од концетрације калцијума у међућелијским просторима (*Pinto* и сар., 2010). Постоји неколико изоформи калпастатина: CAST , CAST I, CAST II, CAST III и CAST IV (*Kostusiak* и сар., 2023; *Cônsolo* и сар., 2016). CAST ген се налази на хромозому 7 и састоји се од 35 егзона и 34 интрона (*Raynaud* и сар., 2005). Варијабилна активност CAST изоформи код различитих група мишића може утицати на експресивност калпаина, односно на процес размекшавања меса (*Kostusiak* и сар., 2023). Полиморфизми CAST гена се доводе у везу са мекоћом меса (табела 2.2.), као и бојом меса (*Castro* и сар., 2016).

Табела 2.2. Повезаност CAST полиморфизама са текстуром меса код говеда.

Полиморфизам	**Локација**	**Супституција**	**Пожељни алел/генотип**	**Референце**
CAST 61	егзон 1	G>C	генотип CC	*Wicińska* и *Szreder*, 2004.
CAST rs109221039	егзон 1	G>C	генотип CC	*Tait* и сар., 2014.
CAST 155	егзон 1	C>T	генотип CC/CT	*Ekerljung*, 2012; *Kaplanová* и сар., 2013.
CAST 2870	3'UTR	G>A	генотип AA	*Li* и сар., 2010.
CAST 2959	3'UTR	A>G	генотип GG	*Morris* и сар., 2006; *Curi* и сар., 2009; *Li* и сар., 2010.
CAST I	интрон 5	C>G	алел C	*Schenkel* и сар., 2006; *Chung* и *Davis*, 2012; *Calvo* и сар., 2014.
CAST II	егзон 7	A>G	генотип AA	*Calvo* и сар., 2014; *Enriquez-Valencia* и сар., 2017.
CAST IV	интрон 12	T>A	генотип TT	*Calvo* и сар., 2014

3. ЦИЉ И ЗАДАЦИ

Основни циљ истраживања је утврђивање услова пре клања говеда - од фарме, током транспорта, истовара и боравка у депоу, као и њиховог утицаја на показатеље стреса и одабране параметре квалитета меса, укључујући и испитивање зрења меса и мутација гена одговорних за размекшавање меса говеда.

Сходно дефинисаном циљу, постављени су следећи задаци:

- Испитивање услова средине на месту набавке, током транспорта, истовара и боравка у депоу кланице према *Welfare Quality® protocol*, 2009
- Испитивање трупова говеда на присуство и тип повреда према *Welfare Quality® protocol*, 2009, уз одређивање масе трупа, температуре и pH вредности меса након обраде трупа
- Макроскопски преглед плућа и јетре на присуство/одсуство патолошких промена
- Одређивање параметара квалитета меса: pH вредности, способности везивања воде, боје и мекоће
- Дефинисање фактора ризика који утичу на појаву повреда на трупу и развој тамног, тврдог, и сувог (DFD) меса
- Одређивање хематокрита и релативне леукоцитарне формуле из пуне крви, као и серолошко и биохемијско испитивање крви на: глукозу, лактат, кортизол, протеине термалног стреса (Hsp 70, *heat shock proteins*), лактат дехидрогеназу, креатин киназу, аланин аминотрансферазу, аспартат аминотрансферазу, Ц-реактивни протеин, магнезијум, укупне протеине, албумине и фибриноген
- Испитивање мутација калпаин (CAPN) и калпастатин (CAST) гена применом методе детекције полиморфизама дужине фрагмента добијених рестрикцијом продуката ланчаног умножавања (RFLP-PCR*, Restriction Fragment Length Polymorphism- Polymerase Chain Reaction*) CAPN и CAST гена и њиховог утицаја на параметре квалитета меса током двонедељног зрења меса

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

4.1. Опис студије

Студија је спроведена на укупно 345 бикова, расе домаће шарено говече у типу сименталца, у три различите кланице (А, Б и Ц). Кланица А и Б су биле комбинованог типа, намењене за клање говеда и свиња, док је кланица Ц била искључиво за клање говеда. Кланица А је имала две одвојене линије, за клање и обраду говеда и свиња, са дневним капацитетом до 700 свиња и око 50 говеда. Депо за говеда је био мањег капацитета, 30 m^2, где су говеда одмарала до 2 сата након транспорта. Коридор од депоа до бокса за омамљивање је био кратак и директан (0,90 x 1,50 m). Кланица Б је такође била комбинованог типа, са две паралелне линије за говеда и свиње, са нешто мањим капацитетом, до 50 свиња и 20 говеда на дневном нивоу. Депо је био подељен на два дела, са укупним површином од 40 m^2, где су говеда проводила време до 12 сати након траспорта. Коридор од депоа до бокса за омамљивање је такође био директан, и нешто продужен (1 m широк x 3 m дуг). Кланица Ц, намењена искључиво за клање говеда, је имала капацитет од 35-40 говеда на дневном нивоу. Површина депоа је износила 50 m^2, где су говеда била смештена до 2 часа након транспорта. Коридор је био довољно простран, и благо закривљен. Код сва три типа кланица, спровођене су стандардне оперативне процедуре клања и обраде трупова, са освртом на појединачне детаље: механичко омамљивање са пенетрирајућим клином, механичко скидање коже са трупа, као и хлађење обрађених трупова у трајању од 36-48 часова, у зависности од њихове тежине.

Истраживање је обухватило све четири годишње сезоне: лето (јун, јул и август), јесен (септембар, октобар, и новембар), зиму (децембар, јануар и фебруар) и пролеће (март, април и мај). Вредности температуре и релативне влажности ваздуха места набавке, као и припадајућих кланица током четири сезоне су приказане у табели 4.1.

Табела 4.1. Вредности температуре и релативне влажности ваздуха током испитиваних сезона.

Сезона	Температура		Релативна влажност	
	Медијана	Минимум-Максимум	Медијана	Минимум-Максимум
Лето	28,9 °C	24,3-33,4 °C	40.0%	22,0-70,0%
Јесен	19,0 °C	10,0-23,2 °C	50,0%	44,0-71,0%
Зима	3,0 °C	-5,0-4,9 °C	75,0%	48,0-80,0%
Пролеће	10,0 °C	6,0-18,0 °C	71,0%	48,0-75,0%

Транспорт се обављао у складу са стандардним процедурама, при чему се број транспортованих грла по серији кретао између 15-20 говеда, у зависности од типа превозног средства – једноспратни или двоспратни тип камиона. Дужина транспорта говеда, од места набавке до кланице, је била највећа код кланице Б, чак до 200 km. У кланици А, транспорт је био прилично уједначен са медијалном вредношћу од 68 km, док је у кланици Ц најдужи транспорт износио 40 km (табела 4.2.). Током сваке посете кланици, испитивана су говеда из једне серије која су пристигла у кланицу, те је укупно испитано 20 серија транспортованих говеда. Говеда су на кланици пристизала директно са фарми или са пијаца, посредством накупаца. Подаци који се односе на капацитет фарми, порекло говеда, дужине транспорта, услове током транспорта и истовара, број говеда по превозном средству, као и свим процедурама на кланици су прикупљани током сваког узорковања (Прилог 1. и 2.).

Табела 4.2. Вредности дужине транспорта у три испитиване кланице.

Кланица	Дужина транспорта	
	Медијана	Минимум-Максимум
А	68,0 km	45,0-70,0 km
Б	157,0 km	105,0-200,0 km
Ц	7,3 km	2,0-40,0 km

4.2. Индикатори добробити током истовара

Током сваког истовара говеда, испитивани су индикатори добробити према *Welfare Quality protocol* (2009), кроз сагледавање испољавања емоционалног понашања и присуства интерактивности животиња и људи. Према протоколу, дефинисани су следећи параметри;

- **Клизање** – тренутни губитак баланса тела животиње;
- **Падање** – потпуни губитак баланса тела код јединке, при чему животиња додирује површину пода и осталим деловима тела, а не само ногама и папцима;
- **Заустављање** – животиња стоји, без знакова могућег покретања, испољавајући знаке страха и тензије;
- **Покушај окретања** – животиња се окреће главом и предњим делом тела до 90° у леву или десну страну;
- **Окретање** – животиња се окреће главом и предњим делом тела преко 90° у леву или десну страну;
- **Присила** – употреба електричног гонича, штапа и других предмета од стране радника.

Приликом сваког истовара, мерена је дужина његовог трајања, те забележено у протокол који је приказан у Прилогу 3. Вредности добробити код животиња су preрачунате према *Hultgren* и сар. (2014), са благим модификацијама. Сваки параметар добробити је помножен са коефицијентом, ради нормализације добијених вредности.

4.3. Испитивање крви говеда

4.3.1. Узимање узорака крви

На линији клања, узета је пуна крв за даља испитивања, кроз следеће кораке:

- Током поступка искрварења, крв је узета помоћу пластичне чаше запремине 200 mL;
- Након тога, у што краћем року, не дужем од 30 s крв је наливена у два вакутајнера са и без антикоагуланса, запремине 10 mL до горње граничне вредности;
- Вакутајнери су благо ротирани неколико пута, око уздужне осе;
- Узорци су транспортовани у хладном ланцу до лабораторије, у ручном фрижидеру на температури до +7 °C;
- Издвајање серума/плазме је извршено у што краћем периоду, не дужем од три сата, цетрифуговањем помоћу центрифуге, са обртајем од 2500 rpm у трајању од 15 минута;
- Серум/плазма, односно издвојени супернатант је пребачен у пластичне тубице запремине 1,5 mL, које су чуване на -20 °C до планираних анализа.

4.3.2. Испитивање пуне крви

Директно из узорака пуне крви, на линији клања, одређена је концентрација глукозе и лактата помоћу ручних апарата: Accu-Chek® Performa (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) и Accutrend Plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) респективно.

Из узорака пуне крви направљен је крвни размаз у дупликату, који је обојен по Romanovski (BioDiff, BioGnost, Zagreb, Croatia), ради одређивања релативне леукоцитарне формуле. Наиме, припремљени размаз је посматран под микроскопом, при чему се одређивао тип леукоцитних ћелија (неутофили, лимфоцити, еозинофилни и базофилни гранулоцити) бројењем до 100 ћелија. Из наведеног састава 100 ћелија, прерачунат је однос неутрофила и лимфоцита – N/L количник.

Хематокритска вредност сваког узорка је одређена микрохематокритском методом (*Kovačević-Filipović* и сар., 2016). Стаклене микрохематокритске цевчице, исуњене крвљу до ¾ дужине су центрифугиране на 15 000 g током 5 минута (Hawksley Microhematocrit Centrifuge, London, England), те помоћу микрохематокритског читача очитане вредности и изражене у процентима.

4.3.3. Биохемијско и серолошко испитивање крви

Кап плазме нанета је на призму рефрактометра и концентрација укупних протеина очитана је са скале, на граници између плаве и беле позадине. Концентрација фибриногена одређена је методом загревања уз преципитацију. Крвна плазма увучена је у микрохематокритску цевчица и инкубисана на 56 °C, током 3 минута, уз центрифугирање на 15000×g током 5 минута (Hawksley Microhematocrit Centrifuge, London, England). На дну цевчице се јасно издвојио преципитовани фибриноген (бели талог). Истискивањем плазме на призму рефрактометра, одређена је концентрација протеина након загревања. Концентрација фибриногена у плазми израчуната је као разлика између концентрације укупних протеина и концентрације протеина након загревања (преципитације).

Концентрација лактат дехидрогеназе (LDH), креатин киназе (CK), аланин аминотрансферазе (ALT), аспартат аминотрансферазе (AST), магнезијума (Mg), Ц-реактивног протеина (CRP), албумина и укупних протеина је одређена из крвног серума помоћу аутоматског уређаја (Architect c8000, Abbott, Wiesbaden, Germany). Коефицијенти варијације поновљених анализе су константно остајали испод 10% за испитиване биохемијске параметре крви.

Концентрација кортизола у крви бикова је испитана путем компетитивног ELISA теста намењеног за специфичну квантитативну детекцију кортизола у крви говеда (Bovine cortisol ELISA Kit, Cusabio, CSBE13064B). Опсег детекције кортизола је износио од 0,049 ng/mL до 200 ng/mL. За извођење ELISA теста, неопходна је припрема серијског разблажења стандарда, ради касније детерминације стандардне криве, приликом одређивања концетрације кортизола из испитиваних узорака (табела 4.3.).

Табела 4.3. Серија разблажења стандарда кортизол ELISA теста.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
ng/mL	200	50	12,5	3,125	0,78	0,195	0,049	0

Поступак извођења теста се састојао из следећих фаза:

- У плочу са 96 места за узорке, нанесено је 50 µL узорака серума као и децималних разблажења стандарда, при чему је једно место остало празно;
- Затим је додато 50 µL Антитела (1x), добро промешано пипетом у трајању од 60 s;
- Плоча је прекривена заштитним поклопцем, те инкубирана 40 минута на 37 °C;
- Поступак испирања је спроведен додавањем 200 µL Пуфера за испирање, након извршеног аспирирања узорака, помоћу мултиканалне пипете. Након 2 минута, садржај је благо аспириран, те поступак испирања још два пута поновљен;
- Након испирања, додато је 100 µL HRP-коњугата и извршена инкубација у трајању од 30 минута на 37 °C;
- Поновљен је поступак испирања, шест пута;

- Затим је додато 90 μL TMB-супстрата, уз процес инкубације у трајању од 20 минута на 37 °C;
- Додато је 50 μL реагенса за завршетак реакције и извршено очитавање оптичке густине сваког места на плочи, спектрофотометријски, помоћу микрочитача, на таласној дужини од 450 nm, уз корекцију на 540 nm;
- Одређивање концетрације кортизола је спроведено помоћу 'Curve Expert' софтвера, генерисањем регресионе криве.

Концентрација протеина топлотног стреса (Hsp 70) је одређена помоћу сендвич ELISA теста (Heat Shock Protein 70, SEA873Mi, Cloud-Clone Corp., CCC, USA), који је специфичан за говеда, због 98% хомологије протеина између различитих врста. Опсег детекције Hsp 70 протеина је износио 3,12-200 ng/mL. Серија децималних разблажења Hsp 70 стандарда је приказана у табели 4.4.

Табела 4.4. Серија разблажења стандарда Hsp 70 ELISA теста.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
ng/mL	200	100	50	25	12,5	6,25	3,12	0

Фазе извођења ELISA теста су биле следеће:

- Додато је 100 μL серума и стандарда у плочу са 96 места. Инкубација је трајала 1 сат на 37 °C;
- Извршена је аспирација садржаја плоче помоћу мултиканалне микропипете, те додато по 100 μL Реагенса А у свако поље. Инкубација је трајала 1 сат на 37 °C ;
- Извршена је поновна аспирација садржаја плоче, те процес испирања поновљен три пута;
- Додато је 100 μL Реагенса Б, уз инкубацију од 30 минута на 37 °C;
- Извршено је испирање плоче, пет пута;
- Затим је додато 90 μL раствора Супстрата, уз инкубацију у трајању од 20 минута на 37 °C ;
- Додат је 50 μL раствора за терминацију реакције;
- Извршено је читање резултата, помоћу микрочитача на таласној дужини од 450 nm, уз одређивање концентрација Hsp 70 протеина помоћу 'Curve Expert' софтвера

4.4. Испитивање повреда на труповима говеда

На линији клања, након скидања коже, а пре расецања трупова на две полутке, извршена је инспекција трупова говеда на присуство и тип повреда (*Welfare Quality protocol,* 2009*).* Протокол који се користио приликом процене повреда, приказан у Прилогу 4., је базиран на студији *Romero* и сар. (2013), уз благе модификације. Поред присуства, повреде су дефинисане у односу на величину, облик, тежину оштећења и локализацију на трупу. На основу величине, повреде су класификоване као: мале (<8 cm), средње (8-16 cm) и велике (> 16 cm). На основу облика, повреде су подељене на: округле, праве и ирегуларне (*Weeks* и сар., 2002). Са аспекта тежине, повреде су класификоване као: I - суперфицијалне, које захватају само површински слој трупа, II - поред површинског слоја, повреда захвата и мишић и III – поред наведених промена, присутан је и прелом кости (*INN*, 2002). Према локализацији, труп је био подељен у седам региона: задња нога, tuber coxae, tuber ichi, леђа, регија абдомена, груди и предње ноге.

4.5. Макроскопски преглед унутрашњих органа

Након евисцерације, извршен је макроскопски преглед унутрашњих органа, јетре и плућа бикова. Преглед, који је спроведен након званичног постморталног прегледа од стране задуженог ветеринара на линији клања, је био заснован на техникама адспекције и палпације свих режњева плућа и јетре, при чему је свака палпирана промена била додатно засечена.

Извршено је и сагледавање свих засечених површина органа, које је задужени ветеринар већ спровео. На јетри је испитано могуће присуство апсцеса (величине и локализације), ехинококусних циста, цирозе и свих других, уочених промена. Плућа су испитана у погледу присуства и развоја конгестије, емфизема, гнојних процеса, паразита, уз детерминацију захваћености лобуса датим промена, испод и изнад 50%. Протокол прегледа јетре и плућа на линији клања, приказан је у Прилогу 5.

4.6. Испитивање квалитета меса

4.6.1. Одређивање масе трупа и pH вредности

Након евисцерације, расецања трупова на две полутке, а пре хлађења, измерена је маса трупа помоћу дигиталне ваге, која је интегрални део колосека линије клања. Истовремено је измерена и pH вредност и температура, убадањем ручног pH метра (Testo 205, Testo AG, Lenzkirch, Germany) у мишић *Longissimus lumborum* у висини 12 ребра. На кланици Ц, мерена је температура и pH вредност мишића трупа током хлађења, 3 сата након клања. Следећег дана, 24 часа након хлађења, поново је измерена pH вредност и температура меса трупа, те узети узорци меса из исте регије, за даље анализе, који су вакуум упаковани на кланици. Узорци су транспортовани у лабораторију, помоћу ручног фрижидера на +4 °C.

pH вредност узорака меса, пореклом са кланице Ц, је мерена и након 72 ч и 96 ч током детерминације способности везивања воде, као и седмог и 14-ог дана зрења. Пре сваке употребе, pH метар је калибрисан стандардним растворима (pH 4,00 и 7,00 при 20 °C).

На основу добијене pH вредности меса 24 сата након хлађења, извршена је класификација меса на: месо нормалног квалитета са pH вредношћу до 5,8; атипично DFD месо од 5,8 до 6,0 и типично DFD месо са вредношћу преко 6,0. Протокол испитивања параметара квалитета меса приказан је у Прилогу 6.

4.6.2. Одређивање боје меса

Након приспећа у лабораторију, узорци су отпаковани и остављени у фрижидер 30 минута, како би се поново извршила оксигенације миоглобина, тзв. bloming time. Боја узорака меса пореклом са кланице А и Б је мерена инструментално, помоћу ручног апарата Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan). Пре саме употребе, апарат је калибрисан помоћу беле плоче, према упуству произвођача. Сва мерења су одрађена у трипликату. Добијене су следеће вредности боје: L* - светлоћа меса (опсег од 0 – црна боја до 100 – потпуно бела боја), a* - удео зелено-црвене боје (негативне вредности дефинишу плаву боју, док позитивне црвену), b* - удео зелено-жуте боје (негативне вредности се односе на зелену, док позитивне на црвену боју) (*Jain*, 1989). Вредност C*, изражености боје је прерачунат према формули: $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, док је H*, нијанса боје добијена из: $\tan^{-1}(b^*/a^*)$.

Одређивање боје узорака меса, пореклом са кланице Ц, првог, седмог и 14-ог дана зрења меса је извршено инструментално, помоћу компјутерског визуелног система (CVS) (*Tomasevic*, 2018; *Tomasević* и сар., 2019). Анализа добијене слике је извршена помоћу Adobe Photoshop CC (64 bit), уз детерминацију боје помоћу alata Color Sampler Tool. Вредности су исказане у виду L*, a* и b*, уз прерачунавање C* и H* вредности.

4.6.3. Одређивање способности везивања воде

Узорци меса, пореклом са три кланице, који су узети 24 сата након хлађења су испитани на способност везивања воде, применом две методе: губитак течности цеђењем (drip loss) и губитак течности кувањем (cooking loss) (*Honikel*, 1998). За детерминацију drip loss-a, узорак меса тежине око 100 g, је прецизно измерен на ваги са прецизношћу 0,05, затим окачен у стаклену посуду са поклопцем, при чему узорак није додиривао зидове посуде. Узорци су пребачени у фрижидер и поново измерени након 24 и 48 сати. Разлика између почетне масе и масе након 24 односно 48 сати је представљала drip loss, изражен у процентима. Узорак меса је потом пребачен у кесу са зип затварачем, куван до постизања унутрашње температуре од 75 °C. Након хлађења, поново је измерена маса узорка. Разлике између две дате масе су чиниле cooking loss, изражен у процентима.

4.6.4. Испитивање текстуре меса

Текстура меса, узорака пореклом из кланице Ц је испитана методом 'Warner-Bratzler shear force' (WBSF), помоћу TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., United Kingdom). Вакуум-паковани узорци меса, складиштени на температури до +7 °C, су отворени првог, седмог и 14-ог дана зрења, те термички обрађени, печењем до постизања унутрашње температуре у центру узорка, до 75 °C. Након хлађења, из сваког узорка меса је анализирано до 8 проба, са различитих места, при чему је ширина пробе била 12 mm, а дужина мерена за сваку пробу, ради нормализације. Пробе, односно узорци су анализирани методом смицања, помоћу наставка 'Warner-Bratzler V notch blade', уз потисну моћ од 50 kg. Добијене вредности су исказане као максимални напон смицања (N).

4.7. Молекуларне анализе

4.7.1. Изолација геномске ДНК

Геномска ДНК је изолована применом модификоване CTAB методе (*Doyle* и *Doyle*, 1987). CTAB пуфер су чиниле следеће компоненте: 2% CTAB – цетил-триметил-амонијум бромид; 1,4M NaCl; 20mM EDTA – етилен-диамин-тетрасирћетна киселина; 100mM Tris pH 8,0; 2% PVP – поливинилпиролидон. Након аутоклавирања, а пре саме употребе додато је 100 μL β меркапто-етанола у 10 mL раствора. Поступак изолације ДНК се састојао из следећих корака:

- Замрзнуто мишићно ткиво је пребачено у аван, те уз додатак течног азота у потпуности самлевено;
- ~200 mg самлевеног ткива је пребачено у пластичну тубицу од 2 mL, у коју је одмах додато 750 μL CTAB раствора, претходно загрејаног на 65 °C;
- Након доброг мешања, тубице су инкубиране на 65 °C у трајању од 3 минуте;
- Затим је додато 750 μL Sevag (хлороформ:изоамилалкохол, 24:1) раствора, уз инверзионо окретање тубице у трајању од 2-3 минуте;
- Потом је извршено цетрифугирање на 13 000 rpm (Minispin, Eppendorf) у трајању од 10 минута;
- Око 600 μL супернатанта је пребачено у нову пластичну тубицу;
- Додато је ~450 μL хладног изопропанола, ради преципитације ДНК;
- Тубице су центрифугиране 5 минута на 13 000 rpm;
- Издвојен је супернатант, а у исту тубицу је додато 500 μL хладног 70% етанола, ради испирања пелета, уз пажљиво ротирање тубица;
- Тубице су центрифугиране 5 минута на 13 000 rpm;
- Издвојен је супернатант помоћу микропипете и испирање етанолом је поновљено;
- Добијени пелет односно ДНК је исушен помоћу ротовапора (Concentrator 5301, Eppendorf), ради евапорације етанола;
- Осушени пелет је ресуспендован у 100 μL воде, те је концентрација ДНК квантификопвана спектрофотометријски, помоћу Nano Drop уређаја.

4.7.2. RFLP – PCR

За извођење ланчане реакције полимеризације (PCR), прво је припремљена реакциона смеша помоћу Dream Taq PCR кита (Thermo Fisher Scientific, USA) и чиниле су је следеће компоненте: 2,5 μL Dream Taq пуфера (10x), 0,5 μL 10mM dNTP, 10μM F и R прајмера, 1 μL изоловане ДНК, концетрације ~100 ng, 0,125 μL Taq полимеразе, те остатак вода до финалне запремине од 25 μL. Секвенце прајмера, оптималне температуре PCR реакције, као и величина добијених продуката је приказана у табели 4.5. Услови приликом извођења PCR су били следећи:

- Иницијална денатурација на 95 °C у трајању од 5 минута;
- 40 циклуса: денатурација на 94 °C у трајању од 45 секунди; температура хибридизације (дата у табели 4.5.) у трајању од 45 секунди; полимеризација на 72 °C у трајању од 45 секунди;
- Финална елонгација на 72 °C у трајању од 5 минута.

Након ланчане реакције за одређени испитивани полиморфизам, извршено је раздвајање добијених продуката хоризонталном електрофорезом у TAE (0,04M Трис-ацетат, 1 mM EDTA) пуферу на 2 % агарозном гелу у који је претходно додат етидијум бромид (Sigma-Aldrich, Germany). Након завршене електрофорезе, извршена је визуелизација гела на трансилуминатору (Biodoc Analyze, Biometra), упоређивањем добијених фрагмената са стандардом (Gene Ruler 100 bp DNA ladder, Thermo Fisher Scientific, Lithuania).

Дигестија умножене ДНК, ради утврђивања генотипова полиморфизама је извршена помоћу специфичних ензима (New England Biolabs, NEB) приказаних у табели 4.5. Смеша за извођење дигестије се састојала из: 1 μL пуфера (10x), 0,2 U ензима, 1 μL умноженог продукта и остатак вода до финалне запремине од 10 μL. Поступак дигестије, односно инкубације и инактивације за испитиване полиморфизме је приказан у табели 4.6. Након завршене дигестије, извршена је визуелизација добијених продуката на 2 % агарозном гелу.

Табела 4.6. Дигестија умножених PCR продуката

Полиморфизам	**Инкубација**		**Инактивација**	
	Температура	Време	Температура	Време
CAPN 316	37 °C	15 min	80 °C	20 min
CAPN 530	37 °C	15 min	65 °C	20 min
CAPN 4751	60 °C	60 min	80 °C	20 min
CAST I	37 °C	15 min	-	-
CAST II	37 °C	15 min	65 °C	20 min
CAST IV	37 °C	60 min	80 °C	20 min
CAST 2870	37 °C	15 min	-	-
CAST 2959	37 °C	15 min	65 °C	20 min

Табела 4.5. Секвенце прајмера, температура хибридизације, рестрикциони ензими и величина продуката испитиваних полиморфизама.

Ген	Полиморфизам	Локација	Прајмери 5'-3'	Старт позиција	Величина продукта, bp	Температура хибридизације	RFLP PCR, bp	Рестрикциони ензими	Референце
Калпаин (CAPN)	CAPN 316	Егзон 9	F: TACCAGGGCCAGATGGTG R: CGGGTGTCAGGTTGCAGA	5546 6253	708	66 °C	C: 371, 248, 89 G: 619, 89	*BtgI*	*Page* и сар., 2009
	CAPN 530	Егзон 14	F: GCAGGGACCCAGTGAGTA R: CCCTGCCAGTTGTCTGAA	22458 23239	782	62,5 °C	G: 657, 125 A: 782	*PflFI*	*Page* и сар., 2009
	CAPN 4751	Интрон 17	F: GGCTTGGGTTGGGATGTC R: TGGGAGGGGTGTTCTCTGA	24450 24656	207	66 °C	C: 122, 85 T: 207	*BsaJI*	*White* и сар., 2006
Калпастатин (CAST)	CAST I	Интрон 5	F: GAAGTAAAGCCAAAGGAACACA R: TGATGGTGGCTGCTCACT	85018 85534	517	61 °C	G: 267, 250 C: 517	*RsaI*	*Schenkel* и сар., 2006
	CAST II	Егзон 7	F: TGCATCATGTCCAGCAGA R: CGTGTGCTCACCTTGTCAG	86827 87062	236	65 °C	A: 236 G: 178, 58	*HhaI*	*Calvo* и сар., 2014
	CAST IV	Интрон 12	F: GATGCCTTGTCATCCGACTT R: TGACTGGCAGATGAAGGAAA	96249 96746	516	62,5 °C	A: 516 T: 259, 257	*BseYI*	*Calvo* и сар., 2014
	CAST 2959	Егзон 30/3'UTR	F: CACATTCTCCCCACAGTGC R: GACAGAGTCTGCGTTTTGCTC	131203 131578	376	64 °C	A: 247, 129 G: 376	*DdeI*	*Corva* и сар., 2007
	CAST 2870	Егзон 30/3'UTR	F: TTTTAAAAATTGCCTTCAGTTGG R: ACATCAAACACAGTCCACAAGTCTA	130769 131035	267	63 °C	G: 260, 7 A: 147, 113, 7	*MluCI*	*Curi* и сар., 2009

4.8. Статистичка анализа

Сви подаци из истраживања који су имали номиналне вредности, су подвргнути униваријантној логистичкој регресији, ради утврђивања постојања повезаности присуства повреда на труповима и појаве типичног DFD меса са условима и поступцима са биковима пре и током клања. Варијабле са значајношћу $P < 0{,}10$ су испитане на мултиколинеарност и укључене у финалну, мултиваријантну логистичку регресију, како би се утврдио заједнички ефекат датих варијабли на појаву повреда на труповима и развој DFD меса. Hosmer-Lemeshow тест је употребљен за проверу прихватљивости логистичких модела. Резултати су приказани као однос вероватноће (ОВ) уз 95% интервал поверења (95% ИП). Постојање разлике у учесталости параметара добробити који су процењивани током истовара, карактеристика повреда на труповима, као и присуства DFD меса је утврђено помоћу Hi kvadrat-ног теста.

Подаци са непрекидним вредностима су подвргнути провери нормалности дистрибуције применом Kolmogorov–Smirnov-ог теста ($P > 0{,}05$). Линеарни модел је употребљен, како би се утврдио појединачни ефекат начина набавке говеда и типа кланице, као и њихов заједнички ефекат на параметре квалитета меса, уз телесну масу као коваријансу. Такође, двофакторски, линеарни модел је употребљен како би се утврдио утицај генотипова испитиваних полиморфизама и дужине трајања зрења на параметре квалитета меса. Трофакторски, линеарни модел је коришћен како би се утврдио појединачни и интерактивни ефекат дужине транспорта, сезоне и присуства повреда на труповима на хематолошке и биохемијске параметре крви говеда, уз телесну масу као коваријансу. Накнадна поређења група дефинисаних фактора датих модела су извршена помоћу Bonferroni post hoc теста. Статистичка значајност је дефинисана на нивоу $P < 0{,}05$.

Модел вишеструке линеарне регресије је употребљен како би се испитала могућност хематолошких и биохемијских параметара крви, као ante-mortem индикатора, на ниво предикције pH вредности постмортално. Поред провере нормалности и уклањања атипичних вредности из даље анализе, испитана је и мултиколинеарност датих независних варијабли помоћу два параметра: VIF – испод 5 и толеранција, изнад 0,1.

Због великог броја варијабли, као и узорака, параметри квалитета меса и хематолошки и биохемијски параметри крви, са непрекидним обележима, су потвргнити анализи главних компонената (PCA). Kaiser-Meyer-Olkin-ов (KMO) тест адекватности узорака и Bartlett-ов тест сферичности су употребљени за проверу прихватљивости сета података факторском анализом. PCA је спроведен применом Promax методе ротације фактора. Статистичка анализа података је спроведена помоћу SPSS 21 софтвера (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. Утицај повреда на трупу на квалитет меса говеда

Испитивањем 345 трупова говеда на линији клања, пореклом из 3 кланице (А, Б и Ц), утврђено је да је 140 трупова имало бар једну повреду, те је укупна преваленција трупова са повредама износила 40,6% (95% интервал поверења, ИП = 35,4-46,0). Посматрано са аспекта појединачне кланице, присуство трупова са повредама на кланици А је износило 59,2% (95% ИП = 50,8-67,2); кланици Б 50,7% (95% ИП = 38,9-62,4) и кланици Ц 12,2% (95% ИП = 7,0-19,3). Промене на унутрашњим органима, јетри и плућима, код испитиваних говеда нису биле утврђене.

5.1.1. Фактори ризика за настанак повреда на трупу говеда

Испитивани фактори повезани са производњом говеђег меса, од фарме порекла, транспорта па све до боравка говеда на кланици, су приказани у табели 5.1. Применом модела униваријантне логистичке регресије, утврђено је да су сви фактори, почев од величине фарме, дужине транспорта, типа превозног средства, густине превоза, начина набавке говеда, сезоне, телесне масе говеда, дужине трајања истовара као и типа кланице, били повезани са појавом повреда на труповима говеда. Сви наведени фактори су укључени у модел мултиваријантне логистичке регресије, како би се испитао њихов заједнички утицај на присутво повреда на труповима (табела 5.2.). Утврђен је 2,94 пута већи ризик од појаве повреда код говеда која су купљена на пијаци у односу на говеда која су транспортована директно са фарми (*P* = 0,0001). Узимајући у обзир тип кланице, уочена је 6,86 вероватноћа присуства повреда код говеда на кланици А (*P* = 0,0001) и 4,76 вероватноћа на кланици Б (*P* = 0,0001) у односу на кланицу Ц, као референтну категорију.

Табела 5.1. Присуство повреда на трупу говеда према испитиваним факторима повезаним са производњом говеђег меса.

Фактор	n	Преваленција (%)	95% ИП	ОВ	95% ИП	*P* - вредност
Величина фарме						**0,004**
> 40 бикова	143	30,1	22,7-38,3	1,00		
< 10 бикова	60	50,0	36,8-63,2	2,33	1,25-4,32	
10-40 бикова	142	47,2	38,8-55,7	2,08	1,28-3,38	
Транспорт						**0,05**
< 100 km	270	37,8	32,0-43,8	1,00		
> 100 km	75	50,7	38,9-62,4	0,59	0,35-0,99	
Превозно средство						**0,0001**
Једноспратно	283	34,6	29,1-40,5	1,00		
Двоспратно	62	67,7	54,7-79,1	3,96	2,21-7,12	
Густина превоза						**0,0001**
> 350 kg/m²	174	23,6	17,5-30,6	1,00		
< 250 kg/m²	62	59,7	46,4-71,9	4,80	2,59-8,89	
250-350 kg/m²	109	56,9	47,1-66,3	4,28	2,55-7,17	
Набавка						**0,0001**
Директно са фарме	130	17,7	11,6-25,3	1,00		
Пијаца	215	54,4	47,5-61,2	5,55	3,29-9,38	

Сезона						**0,04**
Лето	97	34,0	24,7-44,3	1,00		
Јесен	83	33,7	23,7-44,9	0,97	0,53-1,83	
Зима	92	52,2	41,5-62,7	2,12	1,18-3,80	
Пролеће	73	42,5	31,0-54,6	1,43	0,76-2,68	
Кланица						**0,0001**
Ц	125	12,2	7,0-19,3	1,00		
А	145	59,2	50,8-67,2	10,44	5,55-19,65	
Б	75	50,7	38,9-62,4	7,39	3,65-14,96	
Истовар						**0,001**
< 15 min	117	25,6	18,0-34,5	1,00		
> 15 min	228	48,2	41,6-54,9	2,70	1,66-4,41	
Телесна маса						**0,05**
> 500 kg	279	38,0	32,3-44,0	1,00		
< 500 kg	66	51,5	38,9-64,0	1,73	1,01-2,97	
Укупно	345	40,6	35,4-46,0			

*ИП – интервал поверења; *ОВ – однос вероватноће

Табела 5.2. Фактори ризика повезани са појавом повреда на трупу говеда.

Фактор	**Прилагођени ОВ**	**95% ИП**	***P* - вредност**
Набавка			
Директно са фарме	1,00		
Пијаца	2,94	1,65-5,26	**0,0001**
Кланица			
Ц	1,00		
А	6,86	3,53-13,37	**0,0001**
Б	4,76	2,26-10,01	**0,0001**

*ОВ – однос вероватноће; *ИП – интервал поверења

5.1.2. *Ante-mortem* индикатори добробити

Поступци са животињама током истовара, пореклом са пијаце и директно са фарми, код три различите кланице су приказани у табели 5.3. Утврђена је већа учесталост клизања (P = 0,002), засутављања (P = 0,001), покушаја окретања (P = 0,001), окретања (P = 0,03) код говеда током истовара на кланици А у односу на кланице Б и Ц. Знатно већа фреквенција употребе силе од стране радника током истовара је уочена код говеда пореклом са пијаце у односу на говеда транспортована директно са фарми (P = 0,03), те на кланици А у односу на кланице Б и Ц (P = 0,001). Свеобухватно посматрано, вредности нарушене добробити током истовара су биле знатно увећане на кланици А у односу на друге две кланице (P = 0,01).

Табела 5.3. Параметри добробити током истовара говеда у три различите кланице.

	Набавка		*P*	Кланица			*P*
	Пијаца (%)	Фарма (%)		А (%)	Б (%)	Ц (%)	
Клизање	52 (24,2) [а]	34 (26,2) [а]	0,68	50 (34,0)[а]	11 (14,7)[б]	25 (20,3)[б]	**0.002**
Падање	8 (3,7) [а]	3 (2,3) [а]	0,47	7 (4,8) [а]	1 (1,3) [а]	3 (2,4) [а]	0.33
Заустављање	42 (19,5) [а]	18 (13,8) [а]	0,18	48 (32,7)[а]	5 (6,7)[б]	7 (5,7)[б]	**0,001**
Покушај окретања	22 (10,2) [а]	8 (6,2) [а]	0,19	24 (16,3)[а]	1 (1,3)[б]	5 (4,1)[б]	**0,001**
Окретање	2 (0,9) [а]	2 (1,5) [а]	0,61	4 (2,7)[а]	0 (0,0)[б]	0 (0,0)[б]	**0,03**
Кретање уназад	11 (5,1) [а]	5 (3,8) [а]	0,59	11 (7,5) [а]	1 (1,3) [а]	4 (3,3) [а]	0,06
Употреба силе	36 (16,7) [а]	11 (8,5) [б]	**0,03**	33 (22,4)[а]	3 (4,0)[б]	11 (8,9)[б]	**0,001**
Вредност добробити	6,1±0,5 [а]	4,60±0,5 [а]	0,06	6,52±0,5[а]	4,0±0,6[б]	4,04±0,6[б]	**0,01**

*Различита слова у истом реду означавају статистичку значајност на нивоу $P < 0{,}05$

5.1.3. Карактеристике повреда

Од укупно 140 утврђених трупова са повредама, 83,6% трупова је пореклом са пијаце, док је на нивоу кланице највећи проценат повређених трупова био на кланици А и износио 62,1%. Узимајући у обзир број повреда, 75% трупова је имало само једну видљиву повреду на одређеној регији (табела 5.4.). Учесталост трупова са две или више повреда, је била већа на кланици А у односу на друге две кланице (P = 0,01). У односу на величину повреда, 54,3% је било средње величине (дужине 8-16 cm), са најнижом фреквенцијом на кланици Ц у односу на друге две кланице (P = 0,02). Са аспекта дубине повреда, поред промена на површини трупа, на 40,7% трупова је био оштећен и мишићни слој. Надаље, фреквенција повреда у облику линије је била већа на кланици А у односу на кланицу Б и Ц (P = 0,01). Посматрајући локализацију повреда на труповима, 67,8% повреда је захватало задњу четвртину трупа: задња нога (11,4%), *tuber coxae* (25,7%) и *tuber ischi* (30,7%). Применом униваријантне логистичке регресије, утврђено је да вероватноћа за појавом тежег облика повреде која захвата мишићни слој већа код говеда која имају повреде веће од 16 cm у односу на говеда која имају мање повреде на трупу (ОВ = 3,10, 95% ИП = 1,42-6,78, P = 0,005).

Табела 5.4. Карактеристике повреда на труповима испитиваних говеда.

	Набавка		Кланица			**Укупно** (%)
	Пијаца (%)	Фарма (%)	А (%)	Б (%)	Ц (%)	
Број повреда						
Једна	86 (73,5)	19 (82,6)	57 (65,5)	34 (89,5)	14 (93,3)	105 (75,0)
≥ 2	31 (26,5)	4 (17,4)	30 (34,5)	4 (10,5)	1 (6,7)	35 (25,0)
Величина						
< 8 cm	25 (21,4)	3 (13,0)	17 (19,5)	7 (18,4)	4 (26,7)	28 (20,0)
8-16 cm	63 (53,8)	13 (56,5)	47 (54,0)	25 (65,8)	4 (26,7)	76 (54,3)
> 16 cm	29 (24,8)	7 (30,4)	23 (26,4)	6 (15,8)	7 (46,7)	36 (25,7)
Дубина						
Површинска	68 (58,1)	15 (65,2)	50 (57,5)	23 (60,5)	10 (66,7)	83 (59,3)
Мишићна	49 (41,9)	8 (34,8)	37 (42,5)	15 (39,5)	5 (33,3)	57 (40,7)
Облик						
Округла	55 (47,0)	10 (43,5)	34 (39,1)	24 (63,2)	7 (46,7)	65 (46,4)
Линија	49 (41,9)	10 (43,5)	45 (51,7)	10 (26,3)	4 (26,7)	59 (42,1)
Ирегуларна	13 (11,1)	3 (13,0)	8 (9,2)	4 (10,5)	4 (26,7)	16 (11,4)

Локализација						
Задња нога	15 (12,8)	1 (4,3)	9 (10,3)	7 (18,4)	0 (0,0)	16 (11,4)
Tuber coxae	30 (25,6)	6 (26,1)	23 (26,4)	7 (18,4)	6 (40,0)	36 (25,7)
Tuber ischi	35 (29,9)	8 (34,8)	27 (31,0)	15 (39,5)	1 (6,7)	43 (30,7)
Леђа	22 (18,8)	8 (34,8)	15 (17,2)	7 (18,4)	8 (53,3)	30 (21,4)
Регија абдомена	14 (12,0)	0 (0,0)	12 (13,8)	2 (5,3)	0 (0,0)	14 (10,0)
Предња нога	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (1,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,7)
Укупно (%)	117 (100,0)	23 (100,0)	87 (100,0)	38 (100,0)	15 (100,0)	140 (100,0)

5.1.4. Квалитет меса говеда

Помоћу линеарног модела, утврђен је појединачни ефекат начина набавке говеда и типа кланице на испитиване параметре квалитета говеђег меса, уз њихов заједнички ефекат на способност везивања воде (drip loss^{48h} %) (*P* = 0,001). Месо говеда која су транспортована директно са фарми је имало нижу pH^{24h} и већу drip loss^{48h} % вредност у односу на говеда која су купљена на пијаци, што прати и мања учесталост појаве типичног тврдог, тамног и сувог (DFD) меса (*P* = 0,001) (табела 5.5.). С друге стране, уочава се да на све параметре квалитета утиче тип кланице. Након нормализације модела са телесном масом јединке, утврђено је да су pH^{24h} и drip loss^{48h} вредности биле различите у све три кланице, што потврђује и присуство типичног DFD меса, од потпуног одсуства у кланици Ц, до највеће учесталости у кланици А, 40,7% (*P* = 0,001).

Табела 5.5. Параметри квалитета говеђег меса према начину набавке говеда и типу кланице.

	Набавка			Кланица				CEM
	Пијаца	Фарма	*P*	А	Б	Ц	*P*	
Телесна маса (kg)	591,03^{а}	608,70^{а}	0,06	577,23^{а}	568,84^{а}	626,12^{б}	**0,001**	19,38
Маса топлог трупа (kg)	320,71^{а}	341,03^{б}	**0,04**	320,18^{а}	300,01^{б}	357,98^{ц}	**0,001**	11,53
pH^{24h}	5,93^{а}	5,70^{б}	**0,001**	5,98^{а}	5,84^{б}	5,64^{ц}	**0,001**	0,03
drip loss^{48h} %	2,05^{а}	2,67^{б}	**0,009**	1,79^{а}	2,25^{аб}	2,76^{б}	**0,02**	0,20
cooking loss %	28,62^{а}	31,37^{а}	0,17	28,38^{а}	28,87^{а}	32,51^{б}	**0,001**	0,92
Класе квалитета								
Нормално месо (%)	73 (34,0)	91 (70,0)		28 (19,3)	33 (44,0)	103 (82,4)		
Атипични DFD (%)	78 (36,3)	28 (21,5)	**0,001**	58 (40,0)	26 (34,7)	22 (17,6)	**0,001**	
Типични DFD (%)	64 (29,7)^{а}	11 (8,5)^{б}		59 (40,7)^{а}	16 (21,3)^{б}	0(0,0)^{ц}		

*Различита слова у истом реду означавају статистичку значајност на нивоу *P* < 0,05; ** Drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем; ***CEM – стандардизована грешка средње вредности.

5.2. Присуство стреса и развој DFD меса код говеда

Анализом 220 узорака говеђег меса, пореклом из кланице А и Б, утврђено је присуство типичног DFD меса, које је износило 34,1% (95% ИП = 27,8-40,8). Поред типичног, појава атипичног DFD меса, са pH вредношћу од 5,8-6,0, је била скоро идентична, са уделом од 38,2% (95% ИП = 31,7-44.9).

5.2.1. Фактори ризика који утичу на развој DFD меса говеда

Испитивањем услова током производње говеђег меса, кроз модел логистичке регресије, утврђено је да дужина транспорта, тип превозног средства, начин набавке говеда, телесна маса, сезона, присуство повреда, као и њене карактеристике у виду броја, величине, дубине, облика и локализације су били повезани са појавом и развојем DFD меса (табела 5.6.).

Табела 5.6. Присуство DFD меса у односу на услове током примарне производње говеђег меса.

Фактор	n	Атипични DFD % (95% ИП)	Типични DFD % (95% ИП)	ОВ	95% ИП	*P*
Величина фарме						0,29
< 10 бикова	60	33,3 (21,7-46,7)	30,0 (18,8-43,2)	1,00		
10-40 бикова	84	40,5 (29,9-51,7)	42,9 (32,1-54,1)	1,75	0,87-3,53	
> 40 бикова	76	28,9 (19,1-40,5)	38,2 (27,2-50,0)	1,44	0,70-2,96	
Транспорт						**0,003**
< 100 km	145	40,0 (32,0-48,5)	40,7 (32,6-49,2)	1,00		
> 100 km	75	34,7 (24,0-46,5)	21,3 (12,7-32,3)	0,39	0,21-0,72	
Превозно средство						**0,001**
Једноспратно	160	36,2 (28,8-44,2)	29,4 (22,4-37,1)	1,00		
Двоспратно	60	30 (18,8-43,2)	60,0 (46,5-72,4)	3,61	1,94-6,69	
Густина превоза						0,08
250-350 kg/m²	109	26,6 (18,6-35,9)	42,2 (32,8-52,0)	1,00		
< 250 kg/m²	62	51,6 (38,6-64,5)	25,8 (15,5-38,5)	0,48	0,24-0,94	
> 350 kg/m²	49	30,6 (18,2-45,4)	42,9 (28,8-57,8)	1,03	0,52-2,03	
Набавка						**0,02**
Пијаца	175	35,4 (28,4-43,0)	41,7 (34,3-49,4)	1,00		
Директно са фарме	45	31,1 (18,2-46,6)	22,0 (11,2-37,1)	0,40	0,19-0,86	
Истовар						0,40
> 15 min	185	32,4 (25,7-39,7)	38,9 (31,8-46,3)	1,00		
< 15 min	35	45,7 (28,8-63,3)	31,4 (16,8-49,3)	0,72	0,33-1,56	
Телесна маса						**0,01**
> 500 kg	127	37,8 (29,3-46,8)	29,9 (22,1-38,7)	1,00		
< 500 kg	93	30,1 (21,0-40,5)	48,4 (37,9-59,0)	2,13	1,19-3,81	
Повреде						**0,001**
Не	97	29,9 (21,0-40,0)	24,8 (16,5-34,5)	1,00		
Да	123	38,2 (29,6-47,4)	48,0 (38,9-57,2)	2,80	1,57-5,01	
Број повреда						**0,0001**
Не	97	29,9 (21,0-40,0)	24,8 (16,5-34,5)	1,00		
Једна	90	46,7 (36,1-57,50	37,8 (27,8-48,6)	1,75	0,94-3,26	
≥ 2	33	18,2 (7,0-35,5)	72,7 (54,5-86,7)	7,68	3,15-18,72	
Величина повреда						**0,0001**
Не	97	29,9 (21,0-40,0)	24,8 (16,5-34,5)	1,00		
< 8 cm	24	41,7 (22,1-63,4)	33,3 (15,6-55,3)	1,52	0,58-3,99	
8-16 cm	70	45,7 (33,7-58,1)	44,3 (32,4-56,7)	2,42	1,25-4,68	
> 16 cm	29	17,2 (5,8-35,8)	69,0 (49,2-84,7)	6,76	2,72-16,82	
Дубина повреда						**0,002**
Не	97	29,9 (21,0-40,0)	24,8 (16,5-34,5)	1,00		
Површинска	72	33,3 (22,7-45,4)	50,0 (38,0-62,0)	3,04	1,58-5,84	
Мишићна	51	45,1 (31,1-59,7)	45,1 (31,1-59,7)	2,50	1,22-5,13	
Облик повреда						**0,002**
Не	97	29,9 (21,0-40,0)	24,8 (16,5-34,5)	1,00		
Округла	58	43,1 (30,2-56,8)	39,7 (27,0-53,4)	2,00	0,99-4,02	
Линија	53	32,1 (19,9-46,3)	56,6 (42,3-70,2)	3,97	1,95-8,09	
Ирегуларна	12	41,7 (15,2-72,3)	50,0 (21,1-78,9)	3,04	0,90-10,32	

Локализација повреда						**0,03**
Не	97	29,9 (21,0-40,0)	24,8 (16,5-34,5)	1,00		
Задња нога	16	31,2 (11,0-58,70	50,0 (24,6-75,3)	3,04	1,03-8,98	
Tuber coxae	41	31,7 (18,1-48,1)	51,2 (35,1-67,1)	3,19	1,48-6,87	
Tuber ischi	30	40,0 (22,7-59,4)	43,3 (25,5-62,6)	2,32	0,99-5,48	
Леђа	14	50,0 (23,0-77,0)	50,0 (23,0-77,0)	2,53	0,97-6,60	
Регија абдомена	22	45,4 (24,4-67,8)	45,4 (24,4-67,8)	3,04	0,97-9,55	
Сезона						**0,0001**
Лето	50	48,0 (33,7-62,6)	22,0 (11,5-36,0)	1,00		
Јесен	57	24,6 (14,1-37,8)	24,6 (14,1-37,8)	1,15	0,47-2,84	
Зима	60	30,0 (18,8-43,2)	58,3 (44,9-70,9)	4,96	2,14-11,53	
Пролеће	53	37,7 (24,8-52,1)	43,4 (29,8-57,7)	2,72	1,15-6,43	
Укупно	220	38,2 (31,7-44.9)	34,1 (27,8-40,8)			

*ИП – интервал поверења; *ОВ – однос вероватноће

Сви фактори са значајношћу $P < 0,10$ су укључени у модел мултиваријантне логистичке регресије како би се утврдио њихов заједнички утицај на развој DFD меса. Говеда транспортована на релацији краћој од 100 km, са боравком у депоу краћим од 3 часа су имала 2,67 пута већи ризик за развој DFD меса у односу на говеда чији је транпорт био дужи од 100 km, са боравком у депоу дужим од 3 сата ($P = 0,004$) (табела 5.7.). Вероватноћа појаве DFD меса је била 5,01 пута већа током зиме ($P = 0,0001$), као и 3,45 пута током пролећа ($P = 0,008$) у односу на летњу сезону. Као трећи препознати фактор ризика, са повредама на трупу шансе за развој DFD меса су биле 2,59 пута веће у односу на говеђе трупове без присутних повреда ($P = 0,003$).

Табела 5.7. Фактори ризика за развој DFD меса код говеда.

Фактор	Прилагођени ОВ	95% ИП	*P* - вредност
Транспорт			
> 100 km	1,00		
< 100 km	2,67	1,36-5,26	**0,004**
Сезона			
Лето	1,00		
Јесен	1,43	0,56-3,67	0,46
Зима	5,01	2,08-12,08	**0,0001**
Пролеће	3,45	1,39-8,60	**0,008**
Повреде			
Не	1,00		
Да	2,59	1,39-4,83	**0,003**

*ОВ – однос вероватноће; *ИП – интервал поверења

5.2.2. Карактеризација фактора ризика биохемијским параметрима крви

Биохемијски показатељи крви узете током искрварења говеда, пореклом са две кланице су приказани у табели 5.8. Применом линеарног модела, утврђен је интерактивни ефекат дужине транспорта и сезоне на концентрацију глукозе ($P = 0,02$), LDH ($P = 0,01$), AST ($P = 0,05$), Hsp 70

Табела 5.8. Биохемијски показатељи крви према дефинисаним факторима ризика за појаву DFD меса.

	Транспорт (Т)		***P***	**Сезона (С)**				***P***	**Повреде (П)**		***P***	**СЕМ**	**Интеракције**		
	< 100 km	> 100 km		Лето	Јесен	Зима	Пролеће		Не	Да			ТхС	ТхП	СхП
Глукоза mmol/L	5,04[а]	3,91[б]	**0,0001**	4,28[а]	4,50[а]	5,04[б]	4,09[а]	**0,001**	4,36[а]	4,60[а]	0,11	0,15	**0,02**	0,49	0,54
Лактат mmol/L	5,09[а]	4,13[б]	**0,0001**	4,36[а]	4,61[а]	5,03[б]	4,24[а]	**0,02**	4,70[а]	4,51[а]	0,31	0,16	0,42	0,50	0,24
LDH U/L	1955,38[а]	1902,73[а]	0,31	1866,40[а]	1942,43[а]	1889,54[а]	2017,56[а]	0,15	1913,36[а]	1944,75[а]	0,54	49,48	**0,01**	0,86	0,44
CK U/L	614,09[а]	455,77[б]	**0,002**	482,50[а]	547,15[а]	562,15[а]	547,91[а]	0,72	544,22[а]	525,63[а]	0,71	42,58	0,63	0,52	0,20
ALT U/L	23,24[а]	26,60[б]	**0,002**	25,25[а]	26,52[а]	25,21[а]	22,68[а]	0,06	24,45[а]	25,38[а]	0,39	0,98	0,37	0,06	0,12
AST U/L	80,08[а]	95,13[б]	**0,0001**	89,32[а]	90,10[а]	90,04[а]	80,96[а]	0,19	84,71[а]	90,50[а]	0,12	3,20	**0,05**	0,16	0,52
Кортизол ng/mL	60,33[а]	90,30[б]	**0,0001**	62,91[а]	94,03[б]	76,73[аб]	67,60[а]	**0,02**	69,57[а]	81,06[а]	0,13	5,90	0,15	0,35	0,29
Hsp 70 ng/mL	3,88[а]	1,86[б]	**0,0001**	1,03[а]	1,53[а]	5,16[б]	3,78[б]	**0,0001**	2,95[а]	2,81[а]	0,75	0,40	**0,02**	0,06	0,89
Mg mmol/L	0,89[а]	0,81[б]	**0,0001**	0,81[а]	1,00[б]	0,82[а]	0,77[а]	**0,0001**	0,85[а]	0,86[а]	0,60	0,02	**0,01**	0,33	0,20
CRP mg/L	2,77[а]	2,84[а]	0,78	2,34[а]	3,14[а]	2,91[а]	2,82[а]	0,13	2,84[а]	2,77[а]	0,79	0,26	**0,01**	0,69	0,50
N/L %	0,78[а]	0,69[б]	**0,05**	0,69[а]	0,64[а]	0,81[б]	0,81[б]	**0,004**	0,74[а]	0,73[а]	0,76	0,04	0,54	0,27	0,75
Хемотокрит %	40,96[а]	40,76[а]	0,65	39,37[а]	41,86[б]	41,32[аб]	41,58[б]	**0,001**	41,31[а]	40,48[а]	0,13	0,57	0,84	0,93	0,84
УП g/L	78,79[а]	79,92[а]	0,25	75,73[а]	79,76[б]	83,22[б]	78,69[б]	**0,0001**	78,75[а]	80,13[а]	0,11	1,01	**0,01**	0,88	0,10
Албумини g/L	26,60[а]	25,77[а]	0,13	24,03[а]	26,00[а]	28,89[б]	25,82[а]	**0,0001**	26,96[а]	25,41[б]	**0,01**	0,56	0,50	0,11	0,26
Фибриноген g/L	5,80[а]	6,69[б]	**0,05**	7,22[а]	6,51[а]	3,87[б]	7,39[а]	**0,0001**	6,30[а]	6,19[а]	0,80	0,46	0,07	0,84	0,27

*Различита слова у истом реду означавају статистичку значајност на нивоу $P < 0,05$; **LDH – лактат дехидрогеназа, CK – креатин киназа, ALT – аланин аминотрансфераза, AST – аспартат аминотрансфераза, Hsp 70 – протеин термалног стреса 70 килодалтона, Mg – магнезијум, CRP – Ц реактивни протеин, N/L – однос неутрофила и лимфоцита, УП – укупни протеини; ***СЕМ – стандардизована грешка средње вредности.

(P = 0,02), Mg (P = 0,01), CRP (P = 0,01) и укупних протеина (P = 0,01) у крви. Није потврђен заједнички ефекат дужине транспорта, као ни сезоне са присуством повреда на трупу, као једног од показатеља нарушене добробити, на биохемијске показатеље крви (P > 0,05). Концентрација глукозе (P = 0,0001), лактата (P = 0,0001), CK (P = 0,02), Mg (P = 0,0001), као и однос неутрофила и лимфоцита у крви (P = 0,05) су били повећани код говеда транспортованих на релацији краћој од 100 km са мање од 3 сата боравка у депоу у односу на говеда транспортована дуже од 100 km и временом проведеним у депоу дужим од 3 сата. С друге стране, утврђене су веће вредности ALT (P = 0,02), AST (P = 0,0001), кортизола (P = 0,0001) и фибриногена (P = 0,05) у крви бикова чији је транспорт био дужи од 100 km. Током зиме, концентрација глукозе (P = 0,001), лактата (P = 0,02) и албумина (P = 0,0001) у крви је била највећа, док је концентрација фибриногена била најмања (P = 0,0001). Током лета вредности хемотокрита (P = 0,001) и укупних протеина (P = 0,0001) крви испитиваних говеда су биле највеће. Током јесени, говеда су имала највећу концентрацију магнезијума (P = 0,0001) и кортизола (P = 0,02) у крви. Зима и пролеће, као најризичније сезоне за настанак DFD меса, су показале највећу концентрацију Hsp 70 протеина (P = 0,0001), као и однос неутрофила и лимфоцита (P = 0,004) у крви говеда.

5.2.3. Биохемијски параметри крви као *ante-mortem* предиктори pH вредности меса

Применом модела вишеструке линеарне регресије, испитан је утицај биохемијских параметара крви, као *ante-mortem* индикатора на ниво предикције pH^{24h} вредности меса, као постморталног показатеља квалитета меса (табела 5.9.). Прелиминарним анализама је утврђено да нормалност (P > 0,05), линеарност, одсуство нетипичних тачака, као и мултиколинеарности (толеранција изнад 0,1, VIF < 5) нису биле нарушене. Коефицијент детерминације (R^2) указује да сви биохемијски параметри крви, приказани у табели x. могу објаснити 49% варијансе зависне променљиве, pH^{24h} вредности меса (P = 0,0001). Јединствени допринос предикцији pH^{24h} вредности меса имају лактат (P = 0,0001), Hsp 70 (P = 0,0001), ALT (P = 0,005), укупни протеини (P = 0,005), CRP (P = 0,008) и CK (P = 0,02). Остали биохемијски параметри крви нису дали значајан, појединачан допринос нивоу предикције pH^{24h} вредности меса. Посматрајући стандардизоване бета коефицијенте, највећи појединачни допринос предикцији су дали лактат (0,41) и Hsp 70 (0,39) (P = 0,0001).

Табела 5.9. Утицај биохемијских параметара крви на варијабилност pH^{24h} вредности меса.

	Коефицијент		**Парцијална корелација**	**Колинеарност**	
	Бета	P		Толеранција	VIF
Лактат mmol/L	0,41	**0,0001**	0,39	0,59	1,70
Hsp 70 ng/mL	0,39	**0,0001**	0,37	0,77	1,30
ALT U/L	0,31	**0,005**	0,22	0,52	1,93
УП g/L	0,25	**0,005**	0,22	0,81	1,24
CRP mg/L	0,23	**0,008**	0,21	0,80	1,25
CK U/L	0,22	**0,02**	0,19	0,76	1,32
Глукоза mmol/L	0,15	0,13	0,12	0,63	1,59
N/L %	0,12	0,15	0,11	0,84	1,19
AST U/L	-0,15	0,20	-0,10	0,43	2,43
Фибриноген g/L	-0,09	0,30	-0,08	0,77	1,30
Хемокрит %	-0,08	0,35	-0,07	0,72	1,38
LDH U/L	0,08	0,40	0,06	0,64	1,57
Mg mmol/L	-0,06	0,53	-0,05	0,68	1,47
Албумини g/L	-0,05	0,63	-0,04	0,54	1,85
Кортизол ng/mL	0,03	0,71	0,03	0,91	1,10
R^2	**0,49**	**0,0001**			

*Hsp 70 – протеин термалног стреса 70 килодалтона, ALT – аланин аминотрансфераза, УП – укупни протеини, CRP – Ц реактивни протеин, CK – креатин киназа, N/L – однос неутрофила и лимфоцита, AST – аспартат аминотрансфераза, LDH – лактат дехидрогеназа, Mg – магнезијум.

5.2.4. Параметри квалитета меса према дефинисаним класама квалитета меса

Линеарни модел је указао да није постојао утицај телесне масе јединке, масе топлог и хладног трупа на дефинисане класе квалитета меса ($P > 0{,}05$) (табела 5.10.). Разлике у $T^{45\ min}$, као и pH^{24h} испитиваног меса су постојале између све три класе ($P = 0{,}001$), с тим што је типично DFD месо имало најмање вредности T^{24h}, способности везивања воде (drip $loss^{24h}$ % и drip $loss^{48h}$ %), као и светлоће меса (L* вредност) у односу на друге две класе квалитета меса ($P = 0{,}001$). Месо нормалног квалитета је имало најнижу вредност $pH^{45\ min}$, pH^{24h}, а највећу вредност губитка воде током кувања (cooking loss %), као и нијансе боје (H* вредност) у односу на атипично и типично DFD месо ($P = 0{,}001$). Вредности способности везивања воде (drip $loss^{24h}$ % и drip $loss^{48h}$ %), као и боје меса (удела светлоће (L*) и црвене боје (a*)) су биле уједначене за нормално и атипично DFD месо ($P > 0{,}05$).

Табела 5.10. Параметри квалитета меса према дефинисаним класама

	Нормално месо	Атипични DFD	Типични DFD	CEM	*P*
Телесна маса (kg)	594,20	576,30	558,28	18,19	0,06
Маса топлог трупа (kg)	320,15	316,78	304,28	10,48	0,12
Маса хладног трупа (kg)	313,75	310,44	298,20	10,27	0,15
$T^{45\ min}$	36,80^{а}	35,34^{б}	33,47^{ц}	0,66	**0,001**
T^{24h}	6,99^{а}	7,30^{а}	5,89^{б}	0,52	**0,001**
$pH^{45\ min}$	6,66^{а}	6,80^{б}	6,85^{б}	0,04	**0,001**
pH^{24h}	5,67^{а}	5,91^{б}	6,20^{ц}	0,02	**0,001**
drip loss % ^{24h}	1,53^{а}	1,30^{а}	0,81^{б}	0,12	**0,001**
drip loss % ^{48h}	2,44^{а}	2,14^{а}	1,66^{б}	0,19	**0,001**
cooking loss %	30,83^{а}	28,13^{б}	27,09^{б}	1,03	**0,001**
L*	37,91^{а}	37,60^{а}	36,79^{б}	0,50	**0,02**
a*	21,06^{а}	20,37^{а}	19,04^{б}	0,62	**0,001**
b*	10,08^{а}	9,31^{аб}	8,49^{б}	0,53	**0,001**
C*	23,37^{а}	22,46^{аб}	20,95^{б}	0,75	**0,001**
H*	25,84^{а}	24,09^{б}	23,47^{б}	0,90	**0,001**

T - температура меса, drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса, a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје, C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **CEM – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита слова у истом реду означавају статистичку значајност на нивоу $P < 0{,}05$

5.2.5. Факторска анализа испитиваних параметара крви и квалитета меса говеда

Биохемијски параметри крви, као и параметри квалитета меса су били подвргнути анализи главних компонената (PCA). Критеријуми прихватљивости података за спровођење факторске анализе су били задовољавајући, са KMO коефицијентом већим од 0,6 и значајним Батлеровим тестом сферичности ($P < 0{,}0001$), што указује на структуираност корелационе матрице. Анализом главних компоненти, утврђено је присуство три фактора, који објашњавају укупно 50,42% варијансе (табела 5.11.). Први фактор, самостално објашњава 22,03% варијансе, са значајним параметрима квалитета који имају велике факторске тежине, у првом реду параметри боје меса (a*, L* и b*) и способности везивања воде (drip $loss^{48h}$ %), уз негативну корелацију са pH^{24h} вредностима меса. Други фактор, са нешто нижим уделом објашњене варијансе (16,33%), је указао на повезаност светлоће меса (L* вредност) са биохемијским параметрима (Hsp 70, лактатом, CK, укупним протеинима и магнезијумом). Трећи фактор, са најмањим процентом објашњене варијансе, је показао велике тежинске вредности (изнад 0,300) за CRP, Mg, pH^{24h}, ALT и Hsp 70. Три испитана параметра, pH^{24h}, Hsp 70 и Mg су показала значајне тежинске вредности унутар два утврђена фактора. Корелациона вредност између утврђених компоненти је била слаба (0,2-0,4).

Табела 5.11. Факторска анализа испитиваних параметара крви и квалитета меса говеда.

	Фактор 1	**Фактор 2**	**Фактор 3**
	22,03%	38,36%	50,42%
a*	**0,888**	-0,099	-0,109
b*	**0,874**	-0,007	-0,111
L*	**0,642**	**0,416**	0,058
drip loss^{48h} (%)	**0,375**	0,035	0,176
Hsp 70 ng/mL	-0,234	**0,735**	**-0,304**
Лактат mmol/L	0,167	**0,652**	0,196
CK U/L	-0,064	**0,591**	-0,160
УП g/L	-0,116	**-0,549**	-0,105
CRP mg/L	0,016	0,044	**0,775**
Mg mmol/L	0,184	**0,389**	**0,560**
pH^{24h}	**-0,477**	0,188	**-0,530**
ALT U/L	-0,212	-0,138	**0,400**

a - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; L* - светлоћа меса; Hsp 70 – протеин термалног стреса 70 килодалтона; CK – креатин киназа; УП – укупни протеини, CRP – Ц реактивни протеин; Mg – магнезијум; ALT – аланин аминотрансфераза.

5.3. Утицај полиморфизама калпаин (CAPN) и калпастатин (CAST) гена на параметре квалитета меса током зрења

Анализом 95 узорака меса говеда, пореклом из кланице Ц, испитана су три полиморфизма калпаин (CAPN 316, 530 и 4751) гена и пет полиморфизама калпастатин (CAST I, II, IV, 2870 и 2959) гена. Дистрибуција утврђених генотипова, односно алела полиморфизама датих гена је приказана у табели 5.12. Hardy-Weinberg-ов еквилибријум је био нарушен код CAPN 316 и CAPN 4751 полиморфизма ($P < 0,05$), док су остали полиморфизми показали конзистентност унутар испитиване популације, кроз уједначен однос утврђених генотипова према очекиваној учесталости ($P > 0,05$). Нарочито је евидентно доминантно присуство алела G CAPN 316 полиморфизма, са учесталошћу од 96% у испитиваној популацији говеда.

Табела 5.12. Дистрибуција генотипова и алела калпаин и калтастатин гена код испитиваних говеда.

	Генотип	**n**	**Учесталост**	**Алел**	**Учесталост**	**χ^2**	***P***
CAPN 316	GG	88	0,93	G	0,96		
	CG	7	0,07	C	0,04	80,91	0,0001
	CC	-	-				
CAPN 530	GG	34	0,36	G	0,58		
	AG	43	0,45	A	0,42	0,44	0,80
	AA	18	0,19				
CAPN 4751	CC	19	0,20	C	0,30		
	CT	20	0,21	T	0,70	24,62	0,001
	TT	56	0,59				
CAST I	CC	13	0,14	C	0,36		
	CG	43	0,45	G	0,64	0,05	0,97
	GG	39	0,41				
CAST II	AA	18	0,19	A	0,37		
	AG	35	0,37	G	0,63	4,36	0,11
	GG	42	0,44				
CAST IV	AA	47	0,49	A	0,69		
	AT	37	0,39	T	0,31	0,78	0,68
	TT	11	0,12				
CAST 2870	GG	16	0,17	G	0,38		
	AG	40	0,42	A	0,62	1,05	0,59
	AA	39	0,41				
CAST 2959	GG	21	0,33	G	0,45		
	AG	44	0,46	A	0,55	0,41	0,81
	AA	30	0,31				

5.3.1. Повезаност CAPN полиморфизма са квалитетом меса говеда

Линеарни модел је утврдио утицај CAPN 316 полиморфизма на WBSF, односно на текстуру меса током процеса зрења (табела 5.13.). Наиме, генотип CG је имао веће вредности WBSF у односу на GG генотип током првог, 7-ог и 14-ог дана зрења, односно месо датог генотипа је било жилавије током испитиваног периода (P < 0,05). Посматрајући временске тачке током зрења меса, уочава се да је месо CG генотипа имало уједначену текстуру током 7-ог и 14-ог дана зрења (P > 0,05). Иако нису утврђене разлике у погледу pH вредности између два генотипа, месо CG генотипа је имало уједначену pH вредност током првог, 7-ог и 14-ог дана (P > 0,05), док је код меса GG генотипа pH вредност 7-ог и 14-дана била нижа у односу на први дан испитивања (P < 0,05). На остале параметре квалитета меса, у првом реду способност везивања воде и боју меса, CAPN 316 није имао директног утицаја (P > 0,05).

Табела 5.13. Утицај CAPN 316 полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAPN 316		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		GG	CG	CC		*P* вредност		
Време (В)	T $^{\text{45min}}$	36,44$^{\text{Аа}}$	36,47$^{\text{Аа}}$	-	0,75	0,94		
	T $^{\text{3h}}$	25,42$^{\text{Аб}}$	25,30$^{\text{Аб}}$	-	1,70	0,58	0,0001	0,69
	T $^{\text{24h}}$	6,72$^{\text{Ац}}$	6,23$^{\text{Ац}}$	-	0,96	0,61		
Време (В)	pH $^{\text{45min}}$	6,83$^{\text{Аа}}$	6,78$^{\text{Аа}}$	-	0,11	0,65		
	pH $^{\text{3h}}$	6,57$^{\text{Аа}}$	6,47$^{\text{Аа}}$	-	0,13	0,33		
	pH $^{\text{24h}}$	5,65$^{\text{Аб}}$	5,64$^{\text{Аб}}$	-	0,10	0,86		
	pH $^{\text{72h}}$	5,58$^{\text{Аб}}$	5,62$^{\text{Аб}}$	-	0,05	0,28	0,0001	0,82
	pH $^{\text{96h}}$	5,57$^{\text{Аб}}$	5,62$^{\text{Аб}}$	-	0,05	0,47		
	pH $^{\text{7 dan}}$	5,55$^{\text{Абц}}$	5,56$^{\text{Аб}}$	-	0,04	0,85		
	pH $^{\text{14 dan}}$	5,48$^{\text{Ац}}$	5,53$^{\text{Аб}}$	-	0,09	0,59		
Време (В)	WBSF $^{\text{1 dan}}$	40,02$^{\text{Аа}}$	45,98$^{\text{Ба}}$	-	2,62	**0,02**		
	WBSF $^{\text{7 dan}}$	30,42$^{\text{Аб}}$	37,31$^{\text{Бб}}$	-	2,29	**0,003**	0,001	0,74
	WBSF $^{\text{14 dan}}$	24,11$^{\text{Ац}}$	32,14$^{\text{Бб}}$	-	1,84	**0,0001**		
Време (В)	drip loss $^{\text{24h}}$ %	1,78$^{\text{Аа}}$	2,52$^{\text{Аа}}$	-	0,56	0,07	0,0001	0,97
	drip loss $^{\text{48h}}$ %	2,74$^{\text{Аб}}$	3,60$^{\text{Аб}}$	-	0,78	0,14		
-	cooking loss %	31,12$^{\text{А}}$	29,18$^{\text{А}}$	-	2,83	0,48	-	-
Време (В)	L* $^{\text{1 dan}}$	35,60$^{\text{Аа}}$	34,33$^{\text{Аа}}$	-	1,98	0,25		
	L* $^{\text{7 dan}}$	37,81$^{\text{Аб}}$	36,88$^{\text{Аа}}$	-	2,65	0,62	0,04	0,65
	L* $^{\text{14 dan}}$	38,82$^{\text{Аб}}$	36,72$^{\text{Аа}}$	-	2,87	0,25		
Време (В)	a* $^{\text{1 dan}}$	29,34$^{\text{Аа}}$	29,62$^{\text{Аа}}$	-	1,34	0,79		
	a* $^{\text{7 dan}}$	30,80$^{\text{Аб}}$	32,10$^{\text{Аaб}}$	-	1,62	0,25	0,001	0,84
	a* $^{\text{14 dan}}$	31,33$^{\text{Аб}}$	32,49$^{\text{Аб}}$	-	1,28	0,29		
Време (В)	b* $^{\text{1 dan}}$	8,03$^{\text{Аа}}$	8,14$^{\text{Аа}}$	-	1,18	0,88		
	b* $^{\text{7 dan}}$	9,45$^{\text{Аб}}$	10,42$^{\text{Ааб}}$	-	1,40	0,38	0,001	0,89
	b* $^{\text{14 dan}}$	10,64$^{\text{Ац}}$	11,09$^{\text{Аб}}$	-	1,14	0,64		
Време (В)	C* $^{\text{1 dan}}$	30,48$^{\text{Аа}}$	30,76$^{\text{Аа}}$	-	1,58	0,81		
	C* $^{\text{7 dan}}$	32,10$^{\text{Аб}}$	33,45$^{\text{Аа}}$	-	1,88	0,36	0,001	0,94
	C* $^{\text{14 dan}}$	33,08$^{\text{Ац}}$	34,00$^{\text{Аа}}$	-	1,60	0,47		
Време (В)	H* $^{\text{1 dan}}$	15,09$^{\text{Аа}}$	15,10$^{\text{Аа}}$	-	1,49	0,95		
	H* $^{\text{7 dan}}$	17,55$^{\text{Аб}}$	17,93$^{\text{Ааб}}$	-	1,22	0,71	0,001	0,87
	H* $^{\text{14 dan}}$	18,71$^{\text{Ац}}$	19,65$^{\text{Аб}}$	-	1,45	0,46		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу P < 0,05.

Код CAPN 530 полиморфизма није утврђен утицај дефинисаних генотипова на параметре текстуре меса, способности везивања воде и боје меса ($P > 0,05$) (табела 5.14.). Утврђена је умерено нижа pH вредности меса AG генотипа 24 часа након клања ($P < 0,04$), уз највећу вредност губитка течности током кувања меса ($P < 0,001$) у односу на друга два генотипа. Генотип AA је имао нешто већу pH вредност меса 7-ог дана зрења ($P < 0,01$).

Табела 5.14. Утицај CAPN 530 полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAPN 530		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		GG	AG	AA		*P* вредност		
Време (В)	T ^{45min}	36,38^{Аа}	36,30^{Аа}	36,92^{Аа}	0,43	0,29	0,0001	0,91
	T ^{3h}	24,75^{Аб}	25,74^{Аб}	25,33^{Аб}	0,99	0,76		
	T ^{24h}	6,55^{Ац}	6,60^{Ац}	7,12^{Ац}	0,60	0,21		
Време (В)	pH ^{45min}	6,81^{Аа}	6,86^{Аа}	6,84^{Аа}	0,06	0,50	0,0001	0,35
	pH ^{3h}	6,58^{Аа}	6,51^{Аа}	6,77^{Аа}	0,08	0,36		
	pH ^{24h}	5,67^{АБб}	5,60^{Аб}	5,73^{Бб}	0,06	**0,04**		
	pH ^{72h}	5,59^{Аб}	5,59^{Аб}	5,60^{Аб}	0,04	0,10		
	pH ^{96h}	5,58^{Аб}	5,59^{Аб}	5,58^{Аб}	0,04	0,89		
	pH $^{7\ dan}$	5,52^{Аб}	5,57^{Аб}	5,60^{Бб}	0,03	**0,01**		
	pH $^{14\ dan}$	5,50^{Ац}	5,46^{Аб}	5,49^{Аб}	0,05	0,69		
Време (В)	WBSF $^{1\ dan}$	39,44^{Аа}	38,61^{Аа}	40,95^{Аа}	1,48	0,13	0,0001	0,11
	WBSF $^{7\ dan}$	29,11^{Аб}	31,39^{Аб}	31,09^{Аб}	1,29	0,44		
	WBSF $^{14\ dan}$	23,76^{Ац}	23,90^{Ац}	24,55^{Ац}	1,05	0,47		
Време (В)	drip loss ^{24h} %	1,64^{Аа}	1,93^{Аа}	1,59^{Аа}	0,29	0,22	0,0001	0,71
	drip loss ^{48h} %	2,54^{Аб}	2,91^{Аб}	2,85^{Аб}	0,45	0,54		
-	cooking loss %	29,18^{А}	33,41^{Б}	32,43^{А}	1,39	**0,001**	-	-
Време (В)	L* $^{1\ dan}$	35,77^{Аа}	35,59^{Аа}	34,79^{Аа}	1,18	0,68	0,0001	0,40
	L* $^{7\ dan}$	38,05^{Аб}	37,47^{Аб}	38,21^{Аб}	1,68	0,83		
	L* $^{14\ dan}$	38,37^{Аб}	39,31^{Ац}	39,53^{Аб}	1,82	0,76		
Време (В)	a* $^{1\ dan}$	29,41^{Аа}	29,36^{Аа}	29,16^{Аа}	0,72	0,69	0,0001	0,87
	a* $^{7\ dan}$	30,52^{Ааб}	30,90^{Аб}	30,04^{Аб}	1,02	0,55		
	a* $^{14\ dan}$	31,61^{Аб}	30,91^{Аб}	30,99^{Аб}	0,90	0,28		
Време (В)	b* $^{1\ dan}$	8,04^{Аа}	8,03^{Аа}	8,08^{Аа}	0,70	0,91	0,0001	0,48
	b* $^{7\ dan}$	10,23^{Аб}	9,59^{Аа}	8,72^{Аа}	0,78	0,06		
	b* $^{14\ dan}$	10,97^{Аб}	10,75^{Аб}	10,71^{Аб}	0,73	0,67		
Време (В)	C* $^{1\ dan}$	30,53^{Аа}	30,50^{Аа}	30,31^{Аа}	0,86	0,74	0,0001	0,84
	C* $^{7\ dan}$	32,08^{Аб}	32,34^{Аб}	32,03^{Аб}	1,13	0,90		
	C* $^{14\ dan}$	33,52^{Аб}	32,71^{Аб}	32,69^{Аб}	1,08	0,27		
Време (В)	H* $^{1\ dan}$	15,02^{Аа}	14,96^{Аа}	15,63^{Аа}	0,89	0,65	0,0001	0,05
	H* $^{7\ dan}$	17,93^{Аб}	16,78^{Аб}	16,44^{Аб}	0,99	0,08		
	H* $^{14\ dan}$	19,62^{Ац}	18,85^{Ац}	18,62^{Ац}	0,75	0,28		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0,05$

Слично као код CAPN 530 полиморфизма, CAPN 4751 није имао директан утицај на параметре текстуре, способности везивања воде и боје меса ($P > 0{,}05$) (табела 5.15.). pH вредност меса CT генотипа је била нешто већа 72 и 96 часова након клања у односу на друга два генотипа. Губитак течности меса након кувања је био већи код CT генотипа у односу на CC генотип ($P < 0{,}02$). CC генотип је имао веће вредности црвене боје као и степен сатурације миоглобина код меса током 14-ог дана зрења у односу на TT генотип ($P < 0{,}02$).

Табела 5.15. Утицај CAPN 4751 полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAPN 4751		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		CC	CT	TT		*P* вредност		
Време (В)	T^{45min}	36,03^{Аа}	36,78^{Аа}	36,43^{Аа}	0,50	0,22	0,0001	0,79
	T^{3h}	24,57^{Аб}	25,23^{Аб}	25,74^{Аб}	1,12	0,66		
	T^{24h}	6,98^{Ац}	7,10^{Ац}	6,45^{Ац}	0,63	0,44		
Време (В)	pH^{45min}	6,80^{Аа}	6,87^{Аа}	6,83^{Аа}	0,08	0,57	0,0001	0,09
	pH^{3h}	6,53^{Аа}	6,64^{Аа}	6,55^{Аа}	0,09	0,52		
	pH^{24h}	5,61^{Аб}	5,70^{Аб}	5,65^{Аб}	0,06	0,15		
	pH^{72h}	5,54^{Аб}	5,63^{Бб}	5,56^{Аб}	0,03	**0,01**		
	pH^{96h}	5,57^{Аб}	5,63^{Бб}	5,56^{Аб}	0,03	**0,04**		
	pH$^{7\ dan}$	5,52^{Аб}	5,56^{Аб}	5,57^{Аб}	0,03	0,31		
	pH$^{14\ dan}$	5,50^{Аб}	5,50^{Аб}	5,47^{Аб}	0,05	0,66		
Време (В)	WBSF$^{1\ dan}$	39,98^{Аа}	40,69^{Аа}	40,02^{Аа}	1,62	0,79	0,0001	0,66
	WBSF$^{7\ dan}$	30,22^{Аб}	30,15^{Аб}	30,67^{Аб}	1,41	0,82		
	WBSF$^{14\ dan}$	24,01^{Ац}	24,87^{Ац}	24,08^{Ац}	1,14	0,65		
Време (В)	drip loss^{24h} %	2,00^{Аа}	1,58^{Аа}	1,83^{Аа}	0,35	0,42	0,0001	0,36
	drip loss^{48h} %	2,98^{Аб}	2,41^{Аб}	2,83^{Аб}	0,48	0,39		
-	cooking loss %	28,43^{А}	31,91^{Б}	30,77^{АБ}	1,74	**0,02**	-	-
Време (В)	L*$^{1\ dan}$	36,06^{Аа}	34,96^{Аа}	35,84^{Аа}	1,38	0,62	0,0001	0,24
	L*$^{7\ dan}$	36,94^{Аа}	37,64^{Аб}	37,76^{Аб}	1,65	0,97		
	L*$^{14\ dan}$	38,11^{Аа}	38,50^{Аб}	39,63^{Ац}	1,78	0,28		
Време (В)	a*$^{1\ dan}$	30,19^{Аа}	29,46^{Аа}	29,08^{Аа}	0,83	0,17	0,0001	0,04
	a*$^{7\ dan}$	31,74^{Аб}	30,95^{Аб}	30,83^{Аб}	0,83	0,20		
	a*$^{14\ dan}$	33,09^{Аб}	32,05^{АБц}	31,00^{Бб}	0,70	**0,02**		
Време (В)	b*$^{1\ dan}$	8,45^{Аа}	8,25^{Аа}	7,88^{Аа}	0,75	0,46	0,0001	0,34
	b*$^{7\ dan}$	10,18^{Аб}	10,15^{Аб}	9,88^{Аб}	0,59	0,67		
	b*$^{14\ dan}$	11,59^{Аб}	11,26^{Ац}	10,66^{Ац}	0,69	0,31		
Време (В)	C*$^{1\ dan}$	31,38^{Аа}	30,63^{Аа}	30,19^{Аа}	0,99	0,23	0,0001	0,02
	C*$^{7\ dan}$	33,36^{Аб}	32,48^{Аб}	32,49^{Аб}	0,96	0,28		
	C*$^{14\ dan}$	35,27^{Аб}	34,01^{АБц}	32,68^{Бб}	0,89	**0,02**		
Време (В)	H*$^{1\ dan}$	15,42^{Аа}	15,38^{Аа}	14,89^{Аа}	0,94	0,64	0,0001	0,14
	H*$^{7\ dan}$	17,62^{Аб}	17,47^{Аб}	17,90^{Аб}	0,62	0,65		
	H*$^{14\ dan}$	20,05^{Ац}	19,20^{Ац}	18,76^{Ац}	0,78	0,32		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0{,}05$

5.3.2. Повезаност CAST полиморфизма са квалитетом меса говеда

Помоћу линеарног модела, утврђен је утицај CAST I полиморфизма на параметре текстуре, способности везивања воде и pH вредност меса ($P < 0,05$) (табела 5.16.). GG генотип је имао знатно веће вредности WBSF током првог ($P = 0,04$) и 14-ог дана ($P = 0,02$) зрења у односу на CC генотип, односно месо датог генотипа је било знатно жилавије. Такође, GG генотип је имао мању способност везивања воде (drip loss ^{24h} % и drip loss ^{48h} %) ($P = 0,01$), као и нижу pH вредност 24, 72, 96 часова и 7 дана након клања ($P = 0,02$) у односу на CC генотип. С друге стране, код CC генотип је утврђен већи губитак воде током кувања меса у односу на GG генотип ($P = 0,001$). Што се тиче боје меса, GG генотип је има нижу b* и H* вредност 7-ог дана зрења у односу на остала два генотипа ($P = 0,02$).

Табела 5.16. Утицај CAST I полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAST I		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		CC	CG	GG		*P* вредност		
Време (В)	T ^{45min}	36,58$^{\text{Аа}}$	36,39$^{\text{Аа}}$	36,17$^{\text{Аа}}$	0,51	0,87		
	T ^{3h}	26,42$^{\text{Аб}}$	24,62$^{\text{Аб}}$	23,90$^{\text{Аб}}$	1,99	0,23	0,0001	0,41
	T ^{24h}	6,62$^{\text{Ац}}$	6,80$^{\text{Ац}}$	6,88$^{\text{Ац}}$	0,64	0,41		
Време (В)	pH ^{45min}	6,79$^{\text{Аа}}$	6,84$^{\text{Аа}}$	6,88$^{\text{Аа}}$	0,08	0,40		
	pH ^{3h}	6,54$^{\text{Аа}}$	6,55$^{\text{Аа}}$	6,77$^{\text{Аа}}$	0,10	0,68		
	pH ^{24h}	5,60$^{\text{Аб}}$	5,66$^{\text{Аб}}$	5,83$^{\text{Бб}}$	0,06	**0,002**		
	pH ^{72h}	5,57$^{\text{Аб}}$	5,63$^{\text{АБб}}$	5,80$^{\text{Бб}}$	0,06	**0,006**	0,001	0,99
	pH ^{96h}	5,58$^{\text{Аб}}$	5,65$^{\text{АБб}}$	5,80$^{\text{Бб}}$	0,06	**0,02**		
	pH $^{7\ dan}$	5,54$^{\text{Аб}}$	5,62$^{\text{АБбц}}$	5,75$^{\text{Ббц}}$	0,06	**0,003**		
	pH $^{14\ dan}$	5,48$^{\text{Аб}}$	5,50$^{\text{Ац}}$	5,64$^{\text{Ац}}$	0,08	0,24		
Време (В)	WBSF $^{1\ dan}$	38,86$^{\text{Аа}}$	41,02$^{\text{АБа}}$	41,91$^{\text{Ва}}$	1,94	**0,04**		
	WBSF $^{7\ dan}$	29,76$^{\text{Аб}}$	30,97$^{\text{Аб}}$	32,17$^{\text{Аб}}$	1,71	0,15	0,0001	0,38
	WBSF $^{14\ dan}$	23,32$^{\text{Ац}}$	23,62$^{\text{АБц}}$	25,06$^{\text{Вц}}$	1,36	**0,02**		
Време (В)	drip loss ^{24h} %	2,06$^{\text{Аа}}$	1,72$^{\text{Аа}}$	0,84$^{\text{Ба}}$	0,33	**0,01**	0,0001	0,15
	drip loss ^{48h} %	3,18$^{\text{Аб}}$	2,72$^{\text{Аб}}$	1,36$^{\text{Бб}}$	0,44	**0,001**		
-	cooking loss %	32,46$^{\text{А}}$	31,25$^{\text{Б}}$	24,83$^{\text{Б}}$	1,65	**0,001**	-	-
Време (В)	L* $^{1\ dan}$	35,81$^{\text{Аа}}$	35,82$^{\text{Аа}}$	35,37$^{\text{Аа}}$	1,44	0,57		
	L* $^{7\ dan}$	38,44$^{\text{Аб}}$	37,44$^{\text{Аа}}$	37,22$^{\text{Аа}}$	1,94	0,49	0,001	0,68
	L* $^{14\ dan}$	39,84$^{\text{Аб}}$	38,46$^{\text{Аб}}$	39,05$^{\text{Аб}}$	2,10	0,54		
Време (В)	a* $^{1\ dan}$	29,41$^{\text{Аа}}$	29,31$^{\text{Аа}}$	28,49$^{\text{Аа}}$	0,40	0,63		
	a* $^{7\ dan}$	31,32$^{\text{Аб}}$	30,52$^{\text{Аб}}$	29,03$^{\text{Аа}}$	1,10	0,17	0,001	0,22
	a* $^{14\ dan}$	31,61$^{\text{Аб}}$	31,09$^{\text{Аб}}$	29,94$^{\text{Аа}}$	0,98	0,32		
Време (В)	b* $^{1\ dan}$	7,98$^{\text{Аа}}$	8,08$^{\text{Аа}}$	7,17$^{\text{Аа}}$	0,38	0,39		
	b* $^{7\ dan}$	10,14$^{\text{Аб}}$	9,43$^{\text{Аб}}$	7,34$^{\text{Ба}}$	0,93	**0,02**	0,001	0,08
	b* $^{14\ dan}$	11,00$^{\text{Ац}}$	10,71$^{\text{Ац}}$	9,26$^{\text{Аб}}$	0,89	0,24		
Време (В)	C* $^{1\ dan}$	30,46$^{\text{Аа}}$	30,44$^{\text{Аа}}$	29,55$^{\text{Аа}}$	0,59	0,83		
	C* $^{7\ dan}$	32,94$^{\text{Аб}}$	32,04$^{\text{Аб}}$	30,04$^{\text{Аа}}$	1,27	0,11	0,001	0,20
	C* $^{14\ dan}$	33,50$^{\text{Аб}}$	32,95$^{\text{Аб}}$	31,39$^{\text{Аа}}$	1,18	0,29		
Време (В)	H* $^{1\ dan}$	15,07$^{\text{Аа}}$	15,28$^{\text{Аа}}$	13,65$^{\text{Аа}}$	0,51	0,07		
	H* $^{7\ dan}$	17,69$^{\text{Аб}}$	17,76$^{\text{Аб}}$	14,49$^{\text{Бб}}$	0,95	**0,004**	0,001	0,05
	H* $^{14\ dan}$	19,08$^{\text{Ац}}$	18,65$^{\text{Ац}}$	16,86$^{\text{Аб}}$	1,10	0,22		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0,05$

АА генотип CAST II полиморфизма је показао најнижу вредност WBSF током првог дана зрења меса ($P = 0,001$), док је месо GG генотипа било најжилавије 7-ог и 14-ог дана зрења ($P = 0,04$) (табела 5.17.). Такође, GG генотип је имао мању способност везивања воде, као и губитак течности током кувања меса у односу на АА генотип ($P = 0,02$). pH вредност меса првог, 7-ог и 14-ог дана зрења је била већа код GG генотипа у односу на АА генотип ($P < 0,05$). CAST II полиморфизам је имао утицаја на показатеље боје меса, при чему је GG генотип имао знатно мању a*, b*, C* и H* вредност 7-ог и 14-ог дана зрења у односу на АА и AG генотип ($P < 0,05$).

Табела 5.17. Утицај CAST II полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAST II		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		AA	AG	GG		*P* вредност		
Време (В)	T ^{45min}	36,61$^{\text{Аа}}$	36,39$^{\text{Аа}}$	36,13$^{\text{Аа}}$	0,46	0,72	0,0001	0,46
	T ^{3h}	25,95$^{\text{Аб}}$	25,05$^{\text{Аб}}$	24,65$^{\text{Аб}}$	1,05	0,46		
	T ^{24h}	6,53$^{\text{Ац}}$	6,74$^{\text{Ац}}$	7,04$^{\text{Ац}}$	0,59	0,09		
Време (В)	pH ^{45min}	6,79$^{\text{Аа}}$	6,85$^{\text{Аа}}$	6,85$^{\text{Аа}}$	0,07	0,56	0,001	0,99
	pH ^{3h}	6,55$^{\text{Аа}}$	6,50$^{\text{Аа}}$	6,69$^{\text{Аа}}$	0,12	0,18		
	pH ^{24h}	5,60$^{\text{Аб}}$	5,65$^{\text{Аб}}$	5,83$^{\text{Бб}}$	0,06	**0,001**		
	pH ^{72h}	5,57$^{\text{Аб}}$	5,63$^{\text{АБб}}$	5,76$^{\text{Бб}}$	0,05	**0,007**		
	pH ^{96h}	5,57$^{\text{Аб}}$	5,65$^{\text{АБб}}$	5,75$^{\text{Бб}}$	0,05	**0,006**		
	pH $^{7\ dan}$	5,54$^{\text{Аб}}$	5,57$^{\text{Аб}}$	5,78$^{\text{Бб}}$	0,04	**0,0001**		
	pH $^{14\ dan}$	5,48$^{\text{Аб}}$	5,46$^{\text{Аб}}$	5,65$^{\text{Бб}}$	0,06	**0,03**		
Време (В)	WBSF $^{1\ dan}$	38,03$^{\text{Аа}}$	42,33$^{\text{Ба}}$	41,22$^{\text{Ба}}$	1,64	**0,001**	0,0001	0,21
	WBSF $^{7\ dan}$	29,28$^{\text{Аб}}$	31,12$^{\text{АБб}}$	32,28$^{\text{Бб}}$	1,45	**0,04**		
	WBSF $^{14\ dan}$	23,02$^{\text{Ац}}$	23,60$^{\text{АБц}}$	24,95$^{\text{Бц}}$	1,17	**0,04**		
Време (В)	drip loss ^{24h} %	2,06$^{\text{Аа}}$	1,71$^{\text{АБа}}$	1,04$^{\text{Ба}}$	0,36	**0,02**	0,001	0,69
	drip loss ^{48h} %	3,14$^{\text{Аб}}$	2,70$^{\text{АБб}}$	1,88$^{\text{Бб}}$	0,49	**0,02**		
-	cooking loss %	32,33$^{\text{А}}$	30,97$^{\text{АБ}}$	27,73$^{\text{Б}}$	1,58	**0,005**	-	-
Време (В)	L* $^{1\ dan}$	35,74$^{\text{Аа}}$	36,17$^{\text{Аа}}$	34,47$^{\text{Аа}}$	1,27	0,23	0,001	0,79
	L* $^{7\ dan}$	38,22$^{\text{Аб}}$	38,10$^{\text{Ааб}}$	35,84$^{\text{Аа}}$	1,52	0,19		
	L* $^{14\ dan}$	39,17$^{\text{Аб}}$	39,13$^{\text{Аб}}$	38,16$^{\text{Аа}}$	1,76	0,11		
Време (В)	a* $^{1\ dan}$	29,40$^{\text{Аа}}$	29,88$^{\text{Аа}}$	28,52$^{\text{Аа}}$	0,75	0,19	0,001	0,41
	a* $^{7\ dan}$	31,37$^{\text{Аб}}$	31,08$^{\text{Аб}}$	28,55$^{\text{Ба}}$	0,78	**0,02**		
	a* $^{14\ dan}$	31,47$^{\text{Аб}}$	31,92$^{\text{Аб}}$	29,71$^{\text{Бб}}$	0,72	**0,05**		
Време (В)	b* $^{1\ dan}$	8,06$^{\text{Аа}}$	8,55$^{\text{Аа}}$	6,80$^{\text{Аа}}$	0,67	0,15	0,001	0,29
	b* $^{7\ dan}$	10,16$^{\text{Аб}}$	10,09$^{\text{Аб}}$	7,11$^{\text{Баб}}$	0,67	**0,001**		
	b* $^{14\ dan}$	10,95$^{\text{Ац}}$	11,27$^{\text{Ац}}$	8,87$^{\text{Бб}}$	0,66	**0,02**		
Време (В)	C* $^{1\ dan}$	30,54$^{\text{Аа}}$	31,13$^{\text{Аа}}$	29,91$^{\text{Аа}}$	0,90	0,18	0,001	0,27
	C* $^{7\ dan}$	33,00$^{\text{Аб}}$	32,73$^{\text{Аб}}$	29,52$^{\text{Баб}}$	0,96	**0,007**		
	C* $^{14\ dan}$	33,36$^{\text{Аб}}$	34,22$^{\text{Ац}}$	31,09$^{\text{Бб}}$	0,80	**0,01**		
Време (В)	H* $^{1\ dan}$	15,08$^{\text{Аа}}$	15,58$^{\text{Аа}}$	13,65$^{\text{Аа}}$	0,86	0,06	0,001	0,38
	H* $^{7\ dan}$	17,70$^{\text{Аб}}$	18,15$^{\text{Аб}}$	15,34$^{\text{Баб}}$	0,68	**0,001**		
	H* $^{14\ dan}$	19,00$^{\text{Ац}}$	19,40$^{\text{Ац}}$	16,27$^{\text{Бб}}$	0,82	**0,008**		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0,05$

Дефинисани генотипови CAST IV полиморфизма нису имали утицаја на процес размекшавања меса и његову боју ($P > 0,05$) (табела 5.18.). TT генотип је имао мању способност везивања воде и као и мањи губитак воде током кувања меса у односу на AA генотип ($P < 0,05$). Утврђена је већа pH вредоност меса TT генотипа у односу на остала два генотипа 24, 72, 96 сати и 7-ог дана након клања ($P = 0,009$).

Табела 5.18. Утицај CAST IV полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAST IV		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		AA	AT	TT		*P* вредност		
Време (В)	T ^{45min}	36,53^{Аа}	36,42^{Аа}	36,10^{Аа}	0,52	0,93	0,0001	0,54
	T ^{3h}	25,99^{Аб}	24,56^{Аб}	25,15^{Аб}	1,14	0,52		
	T ^{24h}	6,73^{Ац}	6,81^{Ац}	5,88^{Ац}	0,62	0,88		
Време (В)	pH ^{45min}	6,81^{Аа}	6,83^{Аа}	6,85^{Аа}	0,08	0,83	0,001	0,31
	pH ^{3h}	6,53^{Аб}	6,58^{Аб}	6,75^{Аа}	0,09	0,94		
	pH ^{24h}	5,62^{Ац}	5,65^{Ац}	5,84^{Бб}	0,06	**0,009**		
	pH ^{72h}	5,58^{Ац}	5,61^{Ац}	5,80^{Бб}	0,06	**0,004**		
	pH ^{96h}	5,58^{Ац}	5,64^{Ац}	5,80^{Бб}	0,06	**0,004**		
	pH $^{7\ dan}$	5,54^{Аd}	5,57^{Ацd}	5,70^{Ббц}	0,04	**0,001**		
	pH $^{14\ dan}$	5,48^{Аd}	5,51^{Аd}	5,52^{Ац}	0,07	0,80		
Време (В)	WBSF $^{1\ dan}$	40,24^{Аа}	39,64^{Аа}	41,91^{Аа}	1,97	0,50	0,0001	0,50
	WBSF $^{7\ dan}$	30,67^{Аб}	29,98^{Аб}	32,17^{Аб}	1,72	0,34		
	WBSF $^{14\ dan}$	24,32^{Ац}	24,12^{Ац}	23,62^{Ац}	1,39	0,86		
Време (В)	drip loss ^{24h} %	1,98^{Аа}	1,78^{АБа}	0,84^{Ба}	0,36	**0,03**	0,0001	0,16
	drip loss ^{48h} %	3,06^{Аб}	2,66^{АБб}	1,53^{Бб}	0,49	**0,02**		
-	cooking loss %	31,93^{А}	30,99^{АБ}	26,25^{Б}	1,89	**0,02**	-	-
Време (В)	L* $^{1\ dan}$	35,57^{Аа}	35,95^{Аа}	35,23^{Аа}	1,43	0,80	0,01	0,68
	L* $^{7\ dan}$	37,79^{Аб}	37,74^{Аа}	38,07^{Аа}	1,76	0,99		
	L* $^{14\ dan}$	38,79^{Аб}	39,42^{Аб}	38,56^{Аа}	1,98	0,90		
Време (В)	a* $^{1\ dan}$	29,25^{Аа}	29,69^{Аа}	28,39^{Аа}	0,87	0,55	0,01	0,43
	a* $^{7\ dan}$	30,67^{Аб}	31,08^{Аб}	29,24^{Аа}	1,03	0,34		
	a* $^{14\ dan}$	31,14^{Аб}	31,42^{Аб}	29,94^{Аа}	0,95	0,52		
Време (В)	b* $^{1\ dan}$	7,98^{Аа}	8,38^{Аа}	7,64^{Аа}	0,77	0,36	0,001	0,23
	b* $^{7\ dan}$	10,07^{Аб}	9,70^{Аб}	8,37^{Аа}	0,74	0,15		
	b* $^{14\ dan}$	10,65^{Ац}	10,90^{Ац}	9,2a^{Аа}	0,87	0,35		
Време (В)	C* $^{1\ dan}$	30,38^{Аа}	30,91^{Аа}	29,26^{Аа}	1,03	0,51	0,01	0,35
	C* $^{7\ dan}$	32,22^{Аб}	32,63^{Аб}	30,27^{Аа}	1,19	0,26		
	C* $^{14\ dan}$	32,97^{Аб}	33,30^{Аб}	31,39^{Аа}	1,14	0,45		
Време (В)	H* $^{1\ dan}$	15,13^{Аа}	15,44^{Аа}	14,72^{Аа}	0,98	0,29	0,001	0,83
	H* $^{7\ dan}$	17,80^{Аб}	17,62^{Аб}	15,27^{Аа}	0,81	0,06		
	H* $^{14\ dan}$	18,86^{Ац}	18,91^{Ац}	18,24^{Аб}	0,93	0,99		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0,05$

Слично као код CAST IV полиморфизма, CAST 2870 генотипови нису имали директан утицај на процес размекшања меса, боју и pH вредност ($P > 0,05$) (табела 5.19.). Утврђен је утицај датог полиморфизма на способност везивања воде, при чему је AA генотип имао највећи губитак течности током цеђења, под дејством гравитационе силе ($P = 0,002$). GG генотип је имао мањи губитак воде током кувања меса у односу на AA генотип ($P = 0,007$).

Табела 5.19. Утицај CAST 2870 полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAST 2870		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		GG	AG	AA		*P* вредност		
Време (В)	T^{45min}	36,42$^{\text{Аа}}$	36,27$^{\text{Аа}}$	36,59$^{\text{Аа}}$	0,50	0,45		
	T^{3h}	24,62$^{\text{Аб}}$	24,64$^{\text{Аб}}$	25,96$^{\text{Аб}}$	1,15	0,50	0,0001	0,71
	T^{24h}	6,20$^{\text{Ац}}$	6,91$^{\text{Ац}}$	6,56$^{\text{Ац}}$	0,62	0,78		
Време (В)	pH^{45min}	6,87$^{\text{Аа}}$	6,81$^{\text{Аа}}$	6,82$^{\text{Аа}}$	0,08	0,75		
	pH^{3h}	6,74$^{\text{Аа}}$	6,49$^{\text{Аа}}$	6,57$^{\text{Аа}}$	0,08	0,39		
	pH^{24h}	5,75$^{\text{Аб}}$	5,63$^{\text{Аб}}$	5,64$^{\text{Аб}}$	0,06	0,12		
	pH^{72h}	5,73$^{\text{Аб}}$	5,61$^{\text{Аб}}$	5,58$^{\text{Аб}}$	0,06	0,06	0,001	0,33
	pH^{96h}	5,71$^{\text{Аб}}$	5,61$^{\text{Аб}}$	5,58$^{\text{Аб}}$	0,05	0,06		
	pH$^{7\ dan}$	5,63$^{\text{Аб}}$	5,56$^{\text{Абц}}$	5,56$^{\text{Аб}}$	0,04	0,12		
	pH$^{14\ dan}$	5,55$^{\text{Аб}}$	5,47$^{\text{Ац}}$	5,50$^{\text{Аб}}$	0,06	0,57		
Време (В)	WBSF$^{1\ dan}$	38,04$^{\text{Аа}}$	39,84$^{\text{Аа}}$	40,66$^{\text{Аа}}$	1,71	0,31		
	WBSF$^{7\ dan}$	31,22$^{\text{Аб}}$	29,58$^{\text{Аб}}$	31,07$^{\text{Аб}}$	1,48	0,16	0,0001	0,46
	WBSF$^{14\ dan}$	23,31$^{\text{Ац}}$	23,47$^{\text{Ац}}$	24,90$^{\text{Ац}}$	1,19	0,07		
Време (В)	drip loss^{24h} %	1,10$^{\text{Аа}}$	1,58$^{\text{Аа}}$	2,06$^{\text{Ба}}$	0,31	**0,001**	0,0001	0,75
	drip loss^{48h} %	1,90$^{\text{Аб}}$	2,51$^{\text{Аб}}$	3,17$^{\text{Бб}}$	0,44	**0,002**		
-	cooking loss %	27,92$^{\text{А}}$	30,71$^{\text{АБ}}$	32,60$^{\text{Б}}$	1,76	**0,007**	-	-
Време (В)	L*$^{1\ dan}$	34,20$^{\text{Аа}}$	35,81$^{\text{Аа}}$	35,94$^{\text{Аа}}$	1,39	0,27		
	L*$^{7\ dan}$	36,67$^{\text{Аа}}$	37,86$^{\text{Аб}}$	38,04$^{\text{Аб}}$	1,78	0,75	0,01	0,95
	L*$^{14\ dan}$	37,57$^{\text{Аа}}$	39,26$^{\text{Аб}}$	39,06$^{\text{Аб}}$	1,93	0,84		
Време (В)	a*$^{1\ dan}$	29,49$^{\text{Аа}}$	29,38$^{\text{Аа}}$	29,38$^{\text{Аа}}$	0,88	0,82		
	a*$^{7\ dan}$	30,82$^{\text{Аа}}$	30,61$^{\text{Ааб}}$	30,78$^{\text{Аб}}$	1,08	0,87	0,01	0,36
	a*$^{14\ dan}$	30,93$^{\text{Аа}}$	31,36$^{\text{Аб}}$	31,41$^{\text{Аб}}$	0,92	0,66		
Време (В)	b*$^{1\ dan}$	8,03$^{\text{Аа}}$	8,14$^{\text{Аа}}$	8,00$^{\text{Аа}}$	0,78	0,94		
	b*$^{7\ dan}$	8,98$^{\text{Аа}}$	9,98$^{\text{Аб}}$	10,02$^{\text{Аб}}$	0,71	0,24	0,001	0,11
	b*$^{14\ dan}$	9,69$^{\text{Аа}}$	10,84$^{\text{Ац}}$	10,54$^{\text{Аб}}$	0,82	0,60		
Време (В)	C*$^{1\ dan}$	30,62$^{\text{Аа}}$	30,55$^{\text{Аа}}$	30,49$^{\text{Аа}}$	1,04	0,86		
	C*$^{7\ dan}$	32,15$^{\text{Аа}}$	32,15$^{\text{Ааб}}$	32,29$^{\text{Аб}}$	1,26	0,85	0,001	0,29
	C*$^{14\ dan}$	32,50$^{\text{Аа}}$	33,24$^{\text{Аб}}$	32,79$^{\text{Аб}}$	1,19	0,51		
Време (В)	H*$^{1\ dan}$	14,94$^{\text{Аа}}$	15,33$^{\text{Аа}}$	14,99$^{\text{Аа}}$	0,98	0,97		
	H*$^{7\ dan}$	15,92$^{\text{Аа}}$	17,98$^{\text{Аб}}$	17,52$^{\text{Аб}}$	0,81	0,34	0,001	0,10
	H*$^{14\ dan}$	17,77$^{\text{Аа}}$	18,82$^{\text{Ац}}$	18,84$^{\text{Ац}}$	0,93	0,62		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0,05$

Применом линеарног модела, утврђено је да CAST 2959 полиморфизам није имао директног утицаја на pH вредност, способност везивања воде, као и боју меса ($P > 0{,}05$) (табела 5.20.). Дати полиморфизам је утицао на процес размекшавања меса, при чему је GG генотип имао ниже WBSF вредности 7-ог ($P = 0{,}001$) и 14-ог дана ($P = 0{,}02$) зрења у односу на AA генотип.

Табела 5.20. Утицај CAST 2959 полиморфизма на параметре квалитета меса.

CAST 2959		**Генотип (Г)**			**СЕМ**	**Г**	**В**	**Г x В**
		GG	AG	AA		*P* вредност		
Време (В)	T^{45min}	36,16$^{\text{Аа}}$	36,62$^{\text{Аа}}$	36,33$^{\text{Аа}}$	0,47	0,59	0,0001	0,42
	T^{3h}	26,38$^{\text{Аб}}$	25,34$^{\text{Аб}}$	24,67$^{\text{Аб}}$	1,06	0,55		
	T^{24h}	6,35$^{\text{Ац}}$	6,74$^{\text{Ац}}$	6,84$^{\text{Ац}}$	0,60	0,71		
Време (В)	pH^{45min}	6,87$^{\text{Аа}}$	6,81$^{\text{Аа}}$	6,82$^{\text{Аа}}$	0,07	0,65	0,001	0,48
	pH^{3h}	6,61$^{\text{Аа}}$	6,50$^{\text{Аа}}$	6,63$^{\text{Аа}}$	0,08	0,50		
	pH^{24h}	5,57$^{\text{Аб}}$	5,66$^{\text{Аб}}$	5,66$^{\text{Аб}}$	0,05	0,06		
	pH^{72h}	5,53$^{\text{Аб}}$	5,63$^{\text{Аб}}$	5,59$^{\text{Аб}}$	0,04	0,09		
	pH^{96h}	5,52$^{\text{Аб}}$	5,63$^{\text{Аб}}$	5,58$^{\text{Аб}}$	0,04	0,10		
	pH$^{7\ dan}$	5,53$^{\text{Аб}}$	5,59$^{\text{Аб}}$	5,54$^{\text{Аб}}$	0,03	0,06		
	pH$^{14\ dan}$	5,44$^{\text{Аб}}$	5,49$^{\text{Ац}}$	5,52$^{\text{Аб}}$	0,05	0,31		
Време (В)	WBSF$^{1\ dan}$	39,68$^{\text{Аа}}$	40,71$^{\text{Аа}}$	40,29$^{\text{Аа}}$	1,34	0,70	0,0001	0,05
	WBSF$^{7\ dan}$	29,29$^{\text{Аб}}$	30,29$^{\text{АБб}}$	32,48$^{\text{Бб}}$	1,14	**0,001**		
	WBSF$^{14\ dan}$	23,68$^{\text{Ац}}$	24,64$^{\text{АБц}}$	25,47$^{\text{Бц}}$	0,94	**0,02**		
Време (В)	drip loss^{24h} %	1,80$^{\text{Аа}}$	1,78$^{\text{Аа}}$	1,85$^{\text{Аа}}$	0,35	0,93	0,001	0,91
	drip loss^{48h} %	2,97$^{\text{Аб}}$	2,71$^{\text{Аб}}$	2,74$^{\text{Аб}}$	0,48	0,64		
-	cooking loss %	32,03	31,69	29,53	1,75	0,12	-	-
Време (В)	L*$^{1\ dan}$	36,14$^{\text{Аа}}$	35,59$^{\text{Аа}}$	35,59$^{\text{Аа}}$	1,26	0,87	0,001	0,60
	L*$^{7\ dan}$	39,05$^{\text{Аб}}$	37,81$^{\text{Аб}}$	37,02$^{\text{Ааб}}$	1,55	0,39		
	L*$^{14\ dan}$	40,68$^{\text{Аб}}$	38,91$^{\text{Аб}}$	38,14$^{\text{Аб}}$	1,69	0,31		
Време (В)	a*$^{1\ dan}$	29,60$^{\text{Аа}}$	29,20$^{\text{Аа}}$	29,44$^{\text{Аа}}$	0,77	0,53	0,001	0,42
	a*$^{7\ dan}$	30,47$^{\text{Ааб}}$	30,64$^{\text{Аб}}$	30,69$^{\text{Аб}}$	0,95	0,99		
	a*$^{14\ dan}$	31,87$^{\text{Аб}}$	30,78$^{\text{Аб}}$	31,2$^{\text{Аб}}$	0,84	0,27		
Време (В)	b*$^{1\ dan}$	8,28$^{\text{Аа}}$	7,87$^{\text{Аа}}$	8,16$^{\text{Аа}}$	0,69	0,40	0,004	0,01
	b*$^{7\ dan}$	9,09$^{\text{Аб}}$	10,19$^{\text{Аб}}$	10,27$^{\text{Аб}}$	1,55	0,07		
	b*$^{14\ dan}$	11,51$^{\text{Ац}}$	10,36$^{\text{Аб}}$	10,46$^{\text{Аб}}$	0,76	0,16		
Време (В)	C*$^{1\ dan}$	30,77$^{\text{Аа}}$	30,30$^{\text{Аа}}$	30,61$^{\text{Аа}}$	2,70	0,52	0,001	0,31
	C*$^{7\ dan}$	31,84$^{\text{Аа}}$	32,14$^{\text{Аб}}$	32,26$^{\text{Аб}}$	1,11	0,96		
	C*$^{14\ dan}$	33,91$^{\text{Аб}}$	32,55$^{\text{Аб}}$	32,97$^{\text{Аб}}$	1,00	0,24		
Време (В)	H*$^{1\ dan}$	15,49$^{\text{Аа}}$	14,91$^{\text{Аа}}$	15,12$^{\text{Аа}}$	0,86	0,35	0,001	0,007
	H*$^{7\ dan}$	16,84$^{\text{Аб}}$	17,82$^{\text{Аб}}$	17,95$^{\text{Аб}}$	0,63	0,18		
	H*$^{14\ dan}$	19,80$^{\text{Ац}}$	18,25$^{\text{Ац}}$	18,22$^{\text{Аб}}$	0,96	0,12		

T – температура меса након клања, WBSF - Warner-Bratzler Shear Force (текстура меса), drip loss – губитак течности меса цеђењем, cooking loss – губитак течности меса кувањем, L - светлоћа меса; a* - удео црвене боје; b* - удео жуте боје; C* - израженост боје, H* - нијанса боје; **СЕМ – стандардизована грешка средње вредности; ***Различита велика слова у истом реду означавају статистичку значајност између датих генотипова, док различита мала слова унутар једне колоне означавају статистичку значајност између временских тачака датог генотипа, на нивоу $P < 0{,}05$

6. ДИСКУСИЈА

Испиивање услова и поступака са говедима, од места набавке, током транспорта, истовара и боравка на кланици, одговор организма индивидуе на дате услове средине кроз биохемијске и метаболичке промене и њихов утицај на квалитет меса, уз праћење утицаја мутација гена одговорних за размекшавање меса током процеса зрења, је први вид студије, спроведен на домаћем шареном говечету у типу сименталца, у Републици Србији. Према подацима Републичког завода за статистику, производња говеђег меса у Републици Србији је у 2024 години износила 76 000 тона, одмах иза производње свињског и живинског меса (*RZS*, 2025). Ради лакшег сагледавања целокупног истраживања, сходно дефинисаним резултатима, дискусија је подељена у три целине.

6.1. Утицај повреда на трупу на квалитет меса говеда

Преваленција трупова са повредама, у нашој студији је износила 40,6%, те је била слична налазу повреда код говеда у Колумбији (37,5%) (*Romero* и сар., 2013) док је преваленција повреда у Италији била знатно нижа (21,6%) (*Zanardi* и сар., 2022). У већини студија, преваленција повреда на говеђим труповима је била висока, и кретала се у распону од 54,2% у Бразилу (*Mendonça* и сар., 2016) и 60% у Уругвају (*Huertas* и сар., 2015) до 92,2% у Чилеу (*Strappini* и сар., 2012) и 92,7% у Турској (*Özdemir* и *Ekiz*, 2023). Врирања у нивоу преваленције код датих студија могу постојати због различитих услова и поступака са говедима током свих производних фаза, дизајна студије, као и начина процене повреда на труповима испитиваних говеда (*Özdemir* и Ekiz 2023; *Teiga-Teixeira* и сар., 2021; *Bethancourt-Garcia* и сар., 2019). Применом модела мултиваријантне логистичке регресије, наша студија је утврдила постојање два фактора ризика који доприносе појави повреда на труповима бикова: начин набавке говеда и тип кланице. Транспорт животиња представља једну од најстреснијих фаза производног циклуса коју индивидуа може да искуси (*Miranda-De La Lama* и сар. 2014; *Huertas* и сар. 2010). Начин набавке може у великој мери утицати на негативне ефекте транспорта (*Strappini* и сар. 2009; *Weeks* и сар. 2002). У нашем истраживању је утврђено да бикови су који су транспортовани са пијаце имали три пута веће шансе за настанак повреда у односу на бикове који су транспортовани директно са фарми. Вероватноћа ове појаве лежи у чињеници да говеда која се купују са пијаце потичу са различитих фарми, те њихово мешање, неадекватно поступање радника приликом вишеструких утовара и истовара, уз изражену социјалну доминантност код говеда, доприносе настанку повреда, касније видљивих на трупу (*Teiga-Teixeira* и сар., 2021; *Warriss*, 1990). Поред начина набавке, у нашем истраживању, и тип кланице је утицао на појаву повреда. Утврђена је већа вероватноћа за развој повреда код комбинованог типа кланице (А и Б), намењене за клање говеда и свиња у односу на кланицу само за говеда (Ц). Кланица типа А је била нешто већег капацитета, до 200 свиња и 50 говеда на дневном нивоу, с тим што су говеда боравила до два сата у депоу. Међутим, депо се састојао само из једног дела, при чему је мешање бикова са различитих извора било готово свакодневно. Надаље, паралелно се спроводило и клање свиња, што уз кратак и отворен тунел до бокса за омамљивање знатно отежава кретање бикова. Опрема и поступци са животињама чине важан сегмент одрживости стања добробити код животиња (*Grandin*, 2020). Анализом услова и поступака са биковима током истовара, утврђена је већа учесталост клизања, заустављања, покушаја окретања, окретања и примене присиле од стране радника у кланици А у односу на друге две кланице. Одговор организма јединке, на непознате услове средине, уз негативну интеракцију са радницима, испољен кроз присуство страха отежава поступање са животињама, утичући на развој повреда на труповима и нарушене параметре квалитета меса (*Romero и сар.*, 2020; *Carrasco-García* и сар., 2020). С друге стране, иако су на кланици Б услови током истовара били скоро идентични као у кланици Ц, вероватноћа појаве повреда на труповима је била скоро четири пута већа. На кланици Б, нешто мањег капацитета, транспорт бикова је био нешто дужи, до 200 km, те је боравак у депоу био нешто дужи, до 12 сати. Иако је позната чињеница да временом проведеним у депоу, животиња надомешта изгубљену енергију током фазе транспорта, услови у депоу су од пресудног значаја за остварење датих потреба јединке (*Romero* и сар., 2013; *Villarroel* и сар., 2001). Критичан проблем који је условио настанак повреда код бикова на кланици Б је било мешање бикова са различитих фарми порекла, узимајући у обзир да је 80% набављено са пијаце. Одсуство хране, индивидуални темперамент, агресивност и социјална доминантност чине још једну негативну страну продуженог боравка говеда у депоу (*Moura* и сар., 2021). Теже последице дефинисаних фактора ризика, начина набавке бикова и типа кланице у нашем случају, чини њихова интерактивност, што у практичном смислу одражава могућност веће учесталости повреда на труповима говеда.

Карактеристике повреда, у виду броја, величине облика и њихове тежине, могу указати на порекло и јачину инзулта који се догодио у одређеним фазама пре клања говеда (*Strappini* и сар., 2013). У нашој студији, иако је 70% повређених трупова имало само једну повреду, величина и тежина повреда су указивале на лош третман са животињама пре клања. Кланица А је имала највећу учесталост трупова са две или више повреда, средње величине, у форми линије што указује на неадекватно поступање радника и употребу електричних гонича, штапова, што је већ било утврђено током истовара, са великом фреквенцијом присиле. Округле и повреде неправилног облика су углавном биле локализоване на задњој партији трупа, указујући на порекло повреде, услед падова током транспорта и истовара или отежаног уласка у бокс за омамљивање (*Teiga-Teixeira* и сар., 2021; *Strappini* и сар., 2013). Површинске повреде на трупу се, као индикатори нарушене добробити, не обрађују. Међутим, дубоке повреде, које захватају и мишићни слој су биле често присутне у нашој студији, и захтевају додатну обраду, чиме се нарушава изглед и квалитет посебно задњих партија трупа. Све то утиче на одрживост меса и економску исплативост производње (*Huertas* и сар., 2015).

Неадеквати услови и поступци са говедима имају за последицу исцрпљивање енергије организма, недовољну постморталну ацидификацију меса и нарушен квалитет меса, у погледу боје, текстуре и способности везивања воде (*Carrasco-García* и сар., 2020). Мерење pH вредности 24-48 сати након хлађења представља једну од референтних метода процене квалитета меса. Иако и даље постоје дебате у погледу граничних вредности за дефинисање класа квалитета меса говеда, pH вредност охлађеног меса изнад 6,0 указује на присуство типичног DFD меса (*Ijaz* и сар., 2020; *Fuente-Garcia* и сар., 2020). У нашој студији, сходно условима и поступцима који су утврђени током производног процеса, појава типичног DFD меса је највећа у кланици А (40,7%), нешто мања у кланици Б (21,3%), док у кланици Ц, испитано охлађено меса је имало pH вредност испод 6,0. Анализом повезаности присуства повреда на трупу и појаве DFD меса код бикова, утврђена је слаба корелација датих појава, што указује да мноштво других, невидљивих стресора доприноси развоју мана квалитета меса говеда. Проучавањем биохемијских параметара крви се може у великој мери пратити развој стреса и последична појава измењених карактеристика свежег меса, те уз могућност предикције појаве DFD меса се унапређује савремени концепт производње меса (*Lu* и сар. 2018). Степен киселости меса утиче на ниво имобилизоване воде у месу, регулишући величину међућелијских простора (*Matarneh* и сар., 2021). Наша студија је показала комбновани ефекат начина набавке бикова и типа кланице на способност везивања воде меса. Дата појава се може објаснити чињеницом да су говеда потицала са различитих фарми, што уз генетичке факторе, однос типова мишићних влакана и утврђених услова средине може условити развој различитих својстава меса (*Picard* и *Gagaoua*, 2020).

Унапређење система објеката и опреме на кланицама, избегавање транспорта говеда са пијаца, те континуирана едукација радника у погледу добробити животиња су од пресудног значаја за развој концепта квалитетније хране, примарно кроз одсуство повреда на трупу и појаве DFD меса.

6.2. Утицај стреса на развој DFD меса код говеда

Услед негативних услова средине и немогућности адаптације организма на дате факторе, са низом метаболичких промена у организму, постмортално долази до развоја DFD меса (*Matarneh* и сар., 2021; *Teke* и сар., 2014). У нашем истраживању присуство DFD меса је било 34,1%, што је знатно више у односу на студије спроведене у већини других земаља (*Botha*, 2021). Преваленција DFD меса се кретала од 1,3% у Канади (*Holdstock* и сар., 2014), 3,2% у USA (*Moore* и сар., 2012), 4,5% у Бразилу (*Rosa* и сар., 2016), 13,9% у Шпанији (*Mach* и сар., 2008) 24,6% у Аустралији (*Warner* и сар., 2014) до 37% у Колумбији (*Romero* и сар., 2013). Међутим, евидентан проблем праћења преваленције односно присуства DFD меса постоји, јер још увек није одређена универзална гранична pH вредност којом се дефинише DFD месо, због комплексности интеракције услова средине и генетске основе јединке (*Hood* и *Tarrant*, 2012). Граничне pH вредности DFD меса варирају, од pH > 5,7 у Аустралији и Кини (*Loundon* и сар., 2018), > 5,8 у Канади, Мексику и Јужној Африци (*Mahmood* и сар., 2016; *Loredo-Osti* и сар., 2019; *Viljoen*, 2000), > 6,0 у USA, Ирској, Саудијској Арабији и Немачкој (*Apaoblaza* и сар., 2020; *Apple* и сар., 2004; *Kadim* и сар., 2004; *Fischer* и *Hamm*, 1980) до > 6,2 у Јужној Африци, Шведској, Великој Британији и (*Muchenje* и сар., 2008; *Fabiansson* и сар., 1984; *Fjelkner-Modig* и *Ruderus*, 1983; *Taylor*, и *Shaw*, 1977). У последње време, поред типичног DFD меса, истраживања се усмеравају ка дефинисању атипичног DFD меса, са нешто умеренијим, нижим pH вредностима у односу на типично DFD месо (*Ijaz* и сар., 2020). Опсег pH вредности атипичног DFD није стриктно одређен, те се у Кини креће између 5,7-6,09 (*Ijaz* и сар., 2024; *Ijaz* и сар., 2022). У нашој студији, опсег атипичног DFD меса је дефинисан као умерена вредност, од горње граничне нормалне pH вредности 5,8 до 6,0, као почетне вредности за развој класичног DFD меса (*Ferreira* и сар., 2024). Присуство ове класе меса је било у складу са појавом типичног DFD меса, са уделом од 38,2%. Сматра се да атипично DFD месо има већу концентрацију метаболита на нивоу мишића, као што су гликоген-3-фосфат и глукозо-6 фосфат (*Ijaz* и сар., 2022). Све ово указује на сложеност посмортаног процеса, уз могући интерактивни ефекат гликолитичког потенцијала на нивоу мишића и интензитета дејсва фактора спољашње средине. Наша студија је утврдила утицај три фактора ризика на развој DFD меса: дужина транспорта и боравка у депоу, сезона и присуство повреда на труповима. Говеда транспортована на релацији краћој од 100 km, са боравком у депоу краћим од три часа су имала скоро три пута већи ризик за развој DFD меса у односу на говеда чији је транспорт био дужи од 100 km, са боравком у депоу дужим од три сата. Генерално се сматра да што је транспорт дужи, стрес је присутнији, услед дужег исцрпљивања организма (*Chulayo* и *Muchenje*, 2017). Међутим, адитивни ефекти различитих потенцијалних фактора током транспорта, истовара, боравка у депоу могу допринети бржој потрошњи енергије (*Del Campo* и сар., 2010). У студији спроведеној у Колумбији је утврђено да поред старосне категорије говеда и густине превоза, пречесто заустављање превозног средства је био фактор ризика за појаву DFD меса, због утицаја на реактивност и могућих конфликтних ситуација између животиња (*Romero* и сар., 2013). Поред транспорта, у нашој студуји, на развој DFD меса је утицала и сезона. Вероватноћа појаве DFD меса је била 5,01 пута већа током зиме као и 3,45 пута већа током пролећа у односу на летњу сезону. Утицај сезоне на квалитет меса код говеда је детаљно истражен у Америци, Саудијској Арабији и Аустралији, где је утврђен већи ризик за појаву DFD меса током топле у односу на хладну сезону (*Boykin* и сар., 2017; *Mitlohner* и сар., 2002; *Kadim* и сар., 2004 *Steel* и сар., 2018;). Преживари су осетљивији на високе температуре, због бржег базалног метаболизма, веће продукције топлоте, бржег раста и производних способности (*Gonzalez-Rivas* и сар., 2020). Тиме се одражава њихова осетљивост на топлотни стрес. Треба имати у виду да поред топлотног стреса, сезонске варијације појаве мана меса могу бити условљене утицајима различитих, прикривених фактора. Током кишне сезоне, говеда која су боравила у депоу су узимала више хране, брже надоместила изгубљену енергију чиме се редуковала инциденција DFD меса (*Steel* и сар., 2018). Трећи препознати фактор ризика за развој DFD меса је било присуство повреда на трупу. Повреде, као показатељи слабе имплементације принципа добробити, се доводе у везу са манама у квалитету меса, нарочито у Етиопији и Колумбији (*Birhanu* и сар., 2019; *Romero* и сар., 2013). Претпоставка о већем присуству DFD меса у нашој студији се може дефинисати кроз синергистички утицај сва три дефинисана фактора ризика, уз мноштво других, неистражених фактора током процеса производње меса говеда.

Одговор организма на негативне услове средине доводи до повећаних енергетских потреба, ослобађања катехоламина и повећане концентрације глукозе у крви, услед акутног стреса (*Gebresenbet* и сар., 2012; *Warner* и сар., 2007). Повећана мишићна активност, развој анаеробног метаболизма, доводи до повећане концентрације лактата у крви (*Gebresenbet* и сар., 2012; *Shaw* и сар., 1992). С друге стране, кортизол се појачано ослобађа током дуготрајног исцрпљивања организма, као индикатор хроничног стреса (*Bozzo* и сар., 2018; *Bayazit* и сар., 2009). У нашој студији, утврђена је повећана концентрација глукозе и лактата у крви бикова чији је транспорт био краћи од 100 km, са дужином боравка у депоу краћим од 3 сата и током зиме. Концентрација кортизола је била већа код бикова током дужег транспорта, преко 100 km уз продужени боравак у депоу, преко 3 сата. Такође, концентрација глукозе и лактата је била знатно мања, указујући на обнову енергетског статуса дужим боравком у депоу, уз и даље присуство хроничне форме стреса. Креатин киназа (CK), ензим специфичан за мишићне ћелије, катализује фосфорилацију креатина и конверзију ADP u ATP (*Brancaccio* и сар., 2007). Услед физичког оштећења мишића, брзо се повећава концентрација овог ензима у крви (*Werner* и сар., 2013). У нашем истраживању, вредности CK су биле повећане током краћег транспорта, који је спроводен на кланици А, где су утврђени нарушени индикатори добробити током истовара, уз велику употребу силе од стране радника. Лактат дехидрогеназа (LDH), ензим гликолитичког циклуса, који катализује реверзибилну конверзију лактата и пирувата, се повећава у крви услед повећане мишићне активности, гладовања, хладноће, дехидратације, повреда, присуства бактеријских токсина (*Chulayo* и *Muchenje*, 2017; *Drent* и сар., 1996). У нашем испитивању, иако није било појединачног ефекта транспорта и сезоне на LDH концентрацију у крви, њихов заједнички ефекат је постојао, условљавајући знатно већу LDH активност током свих фаза, уз благе варијације које не показују статистичку значајност. Током стреса, услед дејства глукортикостероида, долази до повећане мобилизације неутрофила са периферних маргина крвних судова и костне сржи, уз појачану разградњу лимфоцита (*Brunel* и сар., 2018; *Jain* и сар., 1993). Већи однос неутрофила према лимфоцитима, је утврђен код краћег транспорта и током пролећа, указујући на присуство стреса. Дехидратација, услед транспорта је значајан фактор, који може умањити телесну масу животиње и утицати на квалитет трупа (*Richardson*, 2005; *Van De Water* и сар., 2003). Повећани хематокрит и концентрација протеина у крви указују на присуство дехидратације током летње сезоне. Аланин аминотрансфераза (ALT) и аспартат аминотрансфераза (AST), ензими присутни у митохондријама и цитосолу различитих ткива, укључујући и мишиће, се могу повећати у крви услед интезивног оптерећења, различитих оштећења ткива и дугог транспорта (*Burns* и сар., 2019; *Brunel* и сар., 2018). У нашем испитивању, утврђено је да су, поред изражене CK активности, концентрација ALT и AST биле повећане код бикова који су имали дужи транспорт са продуженим боравком у сточном депоу. Мешање говеда са различитих извора, агресивност и могуће борбе између животиња доводе до појаве повреда на труповима, која је на кланици Б, са датим условима износила 50,7%. Протеини термалног стреса се активирају у организму с циљем спречавања денатурације протеина ћелије, најчешће током топлотног стреса (*Chulayo* и сар., 2016; *Kültz*, 2003). Међутим, у нашем истраживању концентрација Hsp 70 је била највећа током зиме и пролећа, указујући на протективну улогу организма током најстреснијег периода. Магнезијум (Mg) се повећано ослобађа у циркулацију током стреса, како би се спречило превелико ослобађање катехоламина и кортизола (*Stewart* и сар., 2018; *Classen* и сар., 1987). Повећане концетрације, нарочито током краћег транспорта и јесени, указују на протективну улогу организма, испољену ка редукцији стреса. CRP, протеин акутне фазе, који се, поред активације током инфекције, повећано ослобађа током израженог стреса, с циљем ублажавања реактивности (*Lee* и сар., 2003). У нашем истраживању, CRP је био повећан током свих испитиваних фаза, указујући на брзи одговор организма у стању стреса. У нашој студији утврђен је интерактивни ефекат транспорта и сезоне на концентрацију глукозе, LDH, AST, Hsp 70, Mg, CRP и укупних протеина у крви испитиваних бикова. Међутим, без обзира на тип транспорта и сезону, сви испитани параметри крви, сем албумина, укупних протеина, ALT и AST су били знатно изнад нормалних, референтних вредности за говеда (*Laboklin*, 2024; *Doornenbal* и сар., 1988), што указује на евидентно присуство стреса током производних фаза, пре и током клања. Из наведеног се може закључити да испреплетаност акутног и хроничног стреса, условљених типом и интезитетом различитих инзулта, доводи до испољавања одређених хематолошких и биохемијских промена током различитих фаза производње, уз последичне варијације у квалитету меса, изражене кроз присуство DFD меса.

Применом модела вишеструке регресије, утврђено је да лактат, Hsp 70, ALT, укупни протеини, CRP и CK дају јединствен допринос предикцији pH вредности меса 24 часа након хлађења, уз детерминацију варијансе pH вредности у износу од 49%. Код фризијске расе говеда је утврђено да кортизол, глукоза, лактат, CK и LDH се могу користити као маркери за предикцију pH вредности, током искрварења (*Lu* и сар., 2018). Међутим, један од могућих недостатака студије је врло мали број узорака. У нашој студији, највећи јединствени допринос су дали лактат и Hsp 70. Повећана концентрација протеина топлотног стреса се везује за смањени ниво гликогена на нивоу мишића (*Febbraio* и сар., 2002), што потврђује повећан ниво лактата у крви и њихова позитивна повезаност са pH вредношћу меса. Умерена могућност модела да прати варијабилност pH вредности, указује да низ других фактора, превасходно на нивоу мишића може утицати на дате варијације. С тога, испитивањем комбинације биохемијских параметара крви се са већом сигурношћу може предвидети квалитет меса, постмортално.

Посматрајући класе квалитета меса, типично DFD месо је показало највећу способност везивања воде, уз знатно тамнију боју меса и веће pH вредности 45 минута и 24 часа након клања, у односу на атипично DFD и нормално месо, што је и одлика ове класе меса, настале као последица слабог гликолитичког потенцијала мишића (*Ijaz* и сар., 2020; *Ponnampalam* и сар., 2017). Уједначеност у погледу способности везивања воде, и L* и a* вредности боје нормалног и атипичног DFD меса, је највероватније резултат повећане ензимске деградације протеина, што условљава појаву светлије и црвеније боје меса (*Beriain* и сар., 2009, *MacDougall*, 1982). Међутим, са продуженим складиштењем, атипично DFD месо може попримити карактеристике типичног DFD меса у погледу боје, петог дана након клања (*Ijaz* и сар., 2020). Сложеност развоја ових мана меса, превасходно на нивоу протеина, захтева додатна истраживања. Степен дисколорације, чије су вредности биле највеће код нормалног меса, се могу приписати већем степену мраморираности (*McKenna* и сар., 2005).

Применом факторске анализе, испитана је повезаност биохемијских параметара крви и квалитета меса. Утврђена су три фактора, са уделом објашњене варијансе од 50,42%. Први фактор се односио само на квалитет меса, уз негативну корелацију pH вредности са параметрима способности везивања воде и бојом меса. Ово је очекивана појава, јер са повећањем pH вредности, месо задржава више воде, уз умањене L*, a* и b* вредности, што је и одлика DFD меса (*Teke* и сар., 2014). Други фактор, указује на повезаност боје са биохемијским параметрима крви. Објашњење се може дефинисати чињеницом повезаности pH вредности са биохемијским параметрима, као и његовим директним ефектом на боју меса. Потенцијал истраживања се може даље усмерити на могућност предикције боје меса, током *ante-mortem* периода. У трећем фактору, присутна је већ препозната повезаност pH вредности са биохемијским параметрима. Оно што је уочљиво јесте повезаност Hsp 70, Mg и pH вредности меса, и присутност у дефинисаним факторима. Ово указује на активацију одбрамбених механизама идивидуе током стреса, уз варијације квалитета меса. Поред своје заштитне улоге, повећана активност протеина топлотног стреса може умањити ниво протеолизе током размекшавања меса и условити настанак жилавијег меса (*Malheiros* и сар., 2018).

6.3. Утицај генетичких фактора на квалитет меса током зрења

Унапређење особина квалитета меса са аспекта генетике је дуготрајан и сложен процес, због полигене регулације и ниског хертабилитета (*Węglarz* и сар., 2020). Надаље, особине меса се могу једино пратити постмортално, што процес селекције у погледу квалитета меса, чини знатно скупљим. Широм света испитана је функционалност различитих гена, ефекат њихових мутација на карактеристике меса код различитих популација говеда (*Rubio Lozano* и сар., 2016; *Allais* и сар., 2011; *Hirwa* и сар., 2011; *Reardon* и сар., 2010; *Gao* и сар., 2007). Оно што даје комплексност добијеним резултатима јесте постојање различитих раса говеда, те се не могу применити на целу популацију говеда, као врсту животиња (*Węglarz* и сар., 2020). Стога, валидација постојећих маркера, односно полиморфизама гена од значаја за квалитет меса на аутохтоним расама, уз препознавање нових мутација, те њихова инкорпорација у процес селекције може знатно побољшати генетски потенцијал расе.

У нашем истраживању, испитан је утицај три полиморфизма калпаин гена: CAPN 316, 530 и 4751 на параметре квалитета вакуум-пакованог меса током двонедељног зрења. CAPN 316 полиморфизам, који је лоциран на 9 егзону, са изменом гуанина (G) у цитозин (C), доводи до функционалне промене аланина у изолеуцин на нивоу протеина и измењене активности ензима (*Page* и сар., 2002). У нашој студији, Hardy-Weinberg-ов еквилибријум је био нарушен у испитиваној популацији говеда за наведени полиморфизам са доминантном учесталошћу алела G. Студије које су спровели *Corva* и сар. (2007), као и *Pintos* и *Corva* (2011) на товним расама говеда указују на пожељан алел C у испитиваној популацији, са повећаном мекоћом меса током првог дана зрења CC генотипа у односу на GG генотип. Иако је наше истраживање указало на мекше месо GG генотипа у односу на CG генотип, током првог, седмог и четрнаестог дана зрења, посебно са разликом у текстури меса од скоро 8 јединица у последњој фази зрења, ове резултате треба узети са резервом, због мале фреквенције CG генотипа. На остале параметре квалитета, pH вредност, способност везивања воде и боју меса током зрења, CAPN 316 полиморфизам није имао директан утицај. Сличне резултате су добили *Casas* и сар. (2005) у Bos indicus популацији, са великим уделом GG генотипа, уз пожељну мекоћу меса. Студија спроведена у Шведској, утврдила је потпуно одсуство CC генотипа код лимузин, хереформ и сименталске расе говеда (*Xin* и сар., 2013). С друге стране, *Rubio Lozano* и сар. (2016) су утврдили најбољи ефекат CC генотипа на размекшавање меса у другој недељи зрења. Даља истраживања би требала укључити већи број говеда, како би се утврдила стварна фреквенција појединих генотипова, те њихов утицај могао интерференцијски пренети на целокупну популацију домаћег шареног говечета. CAPN 530 мутација, лоцирана на егзону 14 доводи до супституције гуанина (G) аргинином (A) уз промену изолеуцина у валин на нивоу протеина (*Page* и сар., 2002). Студије су указале на позитиван ефекат алела G на текстуру меса током првог дана зрења (*White* и сар., 2005; *Page* и сар., 2002). У нашој студији није утврђен утицај генотипова овог полиморфизма на параметре квалитета меса. Сличне резултате је добио *Calvo* и сар. (2014), испитујући утицај различитих полиморфизама калпаин и калпастатин гена код шпанских раса говеда током седмодневног зрења меса. CAPN 4751 полиморфизам, који се налази на интрону 17, са изменом тимина (T) у цитозин (C) на нивоу гена, описан је први пут код америчке расе говеда, уз позитивни ефекат алела C на процес размекшавања меса седмог, 14-ог и 21-ог дана зрења (*White* и сар., 2005). Наша студија је показала да није било утицаја CAPN 4751 полиморфизма код домаћег шареног говечета на квалитет меса, вероватно због неуравнотеженог односа генотипова, као и малог броја узорака. Слични резултати остварени су у Шпанији и Флориди, где није утврђен директан ефекат калпаина на процес размекшавања меса (*Calvo* и сар., 2014; *Leal-Gutiérrez* и сар., 2018).

У оквиру нашег истраживања, испитан је утицај и пет полиморфизама калпастатин гена: CAST I, II, IV, 2870 и 2959 на параметре квалитета меса домаћег шареног говечета. CAST I полиморфизам је први пут описан од стране *Schenkel* и сар. (2006), са супституцијом G у C. У датој студији која је изведена на товним расама говеда, утврђено је да је CC генотип имао најмекше месо, CG генотип месо осредње мекоће у односу на GG генотип, седмог дана зрења. Код шпанске расе Parda de Montaña, утврђен је израженији негативни ефекат GG генотипа на процес размекшавања меса, седмог дана зрења (*Calvo* и сар., 2014). *Chung* и *Davis* (2012) су утврдили позитиван ефекат CC генотипа на мекоћу меса у односу на GG генотип 14-ог дана зрења код Hanwoo расе говеда. У нашој студији, утврђен је позитиван ефекат CAST I полиморфизма на текстуру меса првог и 14-ог дана зрења, при чему је CC генотип дао најмекше месо, CG генотип месо умерене мекоће у односу на GG генотип. Поред утицаја на текстуру, овај полиморфизам је показао утицај и на pH вредност и боју меса током прве недеље зрења, односно способност везивања воде првог и другог дана зрења, при чему је GG генотип имао повећану pH вредност, смањену способност везивања воде, и мање вредност за b* и H* параметре боје. У студији спроведеној на ирској укрштеној раси говеда, утврђен је негативан ефекат GG генотипа CAST I полиморфизма на pH вредност 48 часова након клања као и дефинисане параметре боје (L*, a* и b*) (*Reardon* и сар., 2010). Утицај концентрације калцијума, присуство мишићних контракција, ниво гликолизе, уз активност калпаина и брзу разградњу протеина интермедијалних филамената одмах након клања, могу довести до испољених карактеристика меса (*Reardon* и сар., 2010; *Melodu* и сар., 2004). Међутим, и даље остаје упитно да ли су дате особине меса окарактерисаног присуством овог полиморфизма последица директне активности датог протеина, активности каспаза и разлагања лизозома који могу утицати на pH вредност или су промене настале услед смањене гликолитичке активности одређеног типа мишићних влакана, под утицајем стреса. Даља истраживања се требају усмеравати ка одређивању активности различитих изоформи калпаина и капластанина, уз дефинисање гликолитичког потенцијала мишићних влакана, нарочито при граничним pH вредностима, који воде ка настанку атипичног DFD меса. CAST II полиморфизам, лоциран на егзону 7, са супституцијом G у A, доводи до измене треонина у аланин на позицији 182 датог протеина, је први пут описан код шпанских раса говеда (*Calvo* и сар., 2014). Код ових раса говеда, GG генотип је имао негативан ефекат на текстуру меса у односу на AA генотип седмог дана зрења. У нашем испитивању, месо AA генотипа је било знатно мекше у односу на GG генотип током првог, седмог и 14-ог дана зрења, док је AG генотип имао умерену текстуру меса током седмог и 14-ог дана зрења. Слично CAST I полиморфизму, CAST II је испољио нешто израженији утицај на pH вредност, способност везивања воде и боју меса, с тим што је ефекат, поред првог и седмог дана, био присутан и 14-ог дана зрења, уз негативан ефекат GG генотипа. Досадашње студије нису утврдиле утицај овог полиморфизма на друге параметре квалитета меса, осим текстуре (*Enriquez-Valencia* и сар., 2017; *Calvo* и сар., 2014). CAST IV полиморфизам, лоциран на интрону 12, уз измену T у A, описан је у студији од стране *Calvo* и сар. (2014), уз изражен негативан ефекат припадајућег AA генотипа на текстуру меса, седмог дана зрења. У нашем испитивању, овај полиморфизам није имао директног утицаја на текстуру меса код домаћег шареног говечета, осим на pH вредност и способност везивања воде, што се може приписати варијацијама постморталног анаеробног метаболизма гликогена. CAST 2870 полиморфизам је присутан на некодирајућем региону CAST гена, уз измену G у A (*Corva* и сар., 2007). Наше истраживање није утврдило повезаност овог полиморфизма са текстуром меса и осталим параметрима квалитета, осим са способношћу везивања воде, слично као код CAST IV полиморфизма. Код кинеских комерцијалних раса говеда, утврђена је повезаност AA генотипа CAST 2870 са појавом жилавијег меса након седмог дана зрења (*Li* и сар., 2010). CAST 2959, лоциран близу CAST 2870 полиморфизма, низводно у 3' некодирајућем региону, са изменом A у G, доводи се у вези са мекшим месом код AA генотипа у односу на хетерозиготну форму (*Curi* и сар., 2009). Код домаћег шареног говечета је утврђен ефекат овог полиморфизма на текстуру меса седмог и 14-ог дана зрења, при чему је GG генотип имао мекше месо у односу на AA генотип. *Li* и сар. (2010) су утврдили сличан ефекат, при чему је месо AA генотипа било жилавије након седмог дана зрења.

Наша студија је указала да алел C CAST I, алел A CAST II и алел G CAST 2959 полиморфизама чине пожељне алеле код домаћег шареног говечета, испољавајући позитивне ефекте на параметре квалитета меса током процеса зрења. Будућа истраживања, која подразумевају већи број узорака, уз просторне, транскрипционе и пост-транслационе промене калпаина и калпастина, нарочито при горњим граничним pH вредностима, које воде ка развоју атипичног DFD меса, су неопходна. Интегративни приступ препознавања генетичких маркера од значаја за параметре квалитета меса и њихова примена кроз поступак селекције, уз константно побољшање услова средине и добробити јединке омогућавају добијање безбедније и квалитетније хране.

7. ЗАКЉУЧЦИ

Сходно добијеним резултатима, могу се извести следећи закључци:

- Преваленција трупова домаћег шареног говечета са повредама је износила 40,6% (95% ИП = 35,4-46,0). Фактори ризика који су допринели појави повреда на труповима јесу набавка бикова са пијаца уз мешање животиња са различитих фарми порекла и неадекватна пракса у комбинованим типовима кланица, намењеним за клање говеда и свиња.
- Промене на унутрашњим органима, јетри и плућима, код испитиваних говеда нису биле утврђене.
- Присуство типичног DFD меса је износило 34,1% (95% ИП = 27,8-40,8). Фактори ризика који су утицали на развој DFD меса су транспорт краћи од 100 km, са боравком у сточном депоу краћим од 3 сата, зима и пролеће као сезоне и присуство повреда на труповима испитиваних бикова.
- Утврђен је интерактивни ефекат дужине транспорта и сезоне на концентрацију глукозе, LDH, AST, Hsp 70, Mg, CRP и укупних протеина у крви испитиваних бикова. Концентрација глукозе, лактата, CK, Mg, као и однос неутрофила и лимфоцита у крви су били повећани код говеда транспортованих на релацији краћој од 100 km са мање од 3 сата боравка у депоу. Зима и пролеће, као најризичније сезоне за настанак DFD меса, су показале највећу концентрацију Hsp 70 протеина, као и однос неутрофила и лимфоцита у крви говеда.
- Јединствени допринос предикцији pH вредности меса 24 часа након хлађења су дали лактат, Hsp 70, ALT, укупни протеини, CRP и CK, уз детерминацију варијансе зависне променљиве, pH^{24h} вредности меса у износу од 49%. Наведени биохемијски параметри крви, нарочито лактат и Hsp 70, се могу користити као *ante-mortem* индикатори за предикцију квалитета меса говеда.
- Посматрајући класе квалитета испитаног меса, вредности способности везивања воде, као и боје меса (L* и a* вредности) су биле уједначене за месо нормалног квалитета и атипично DFD месо, са pH вредношћу 5,8-6,0.
- Анализом три полиморфизма калпаин (CAPN 316, 530 и 4751) гена и пет полиморфизама калпастатин (CAST I, II, IV, 2870 и 2959) гена, утврђено је да алел C CAST I, алел A CAST II и алел G CAST 2959 полиморфизама чине пожељне алеле код испитиваних говеда, испољавајући позитивне ефекте на процес размекшавања меса током двонедељног зрења. Наведени генетички маркери би се могли укључити у поступак селекције, ради унапређења квалитета меса домаћег шареног говечета у типу сименталца.

8. ЛИТЕРАТУРА

Alende, M., Volpi Lagreca, G., Pordomingo, A. J., Pighín, D., Grigioni, G., Carduza, F., ... & Sancho, A. M. (2014). Effects of transport, lairage and ageing time on stress indicators and on instrumental and sensory quality of beef from steers. https://doi.org/10.4067/S0301-732X2014000200007

Allais, S., Journaux, L., Levéziel, H., Payet-Duprat, N., Raynaud, P., Hocquette, J. F., ... & Renand, G. (2011). Effects of polymorphisms in the calpastatin and μ-calpain genes on meat tenderness in 3 French beef breeds. *Journal of animal science*, *89*(1), 1-11. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3063

Apaoblaza, A., Gerrard, S. D., Matarneh, S. K., Wicks, J. C., Kirkpatrick, L., England, E. M., ... & Gerrard, D. E. (2020). Muscle from grass-and grain-fed cattle differs energetically. *Meat Science*, *161*, 107996. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107996

Apple, J. K., Kegley, E. B., Galloway, D. L., Wistuba, T. J., Rakes, L. K., & Yancey, J. W. S. (2006). Treadmill exercise is not an effective methodology for producing the dark-cutting condition in young cattle. *Journal of animal science*, *84*(11), 3079-3088. https://doi.org/10.2527/jas.2006-137

Arrington, D. D., Van Vleet, T. R., & Schnellmann, R. G. (2006). Calpain 10: a mitochondrial calpain and its role in calcium-induced mitochondrial dysfunction. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *291*(6), C1159-C1171. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00207.2006

Averós, X., Martin, S., Riu, M., Serratosa, J., & Gosalvez, L. F. (2008). Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. *Livestock Science*, *119*(1-3), 174-182. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.04.002

Bayazit, V. (2009). Evaluation of cortisol and stress in captive animals. *Aust. J. Basic Appl. Sci*, *3*(2), 1022-1031.

Bekhit, A. E. D., & Faustman, C. (2005). Metmyoglobin reducing activity. *Meat science*, *71*(3), 407-439. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.032

Beriain, M. J., Goñi, M. V., Indurain, G., Sarriés, M. V., & Insausti, K. (2009). Predicting Longissimus dorsi myoglobin oxidation in aged beef based on early post-mortem colour measurements on the carcass as a colour stability index. *Meat science*, *81*(3), 439-445. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.09.009

Bernard, C., Cassar-Malek, I., Le Cunff, M., Dubroeucq, H., Renand, G., & Hocquette, J. F. (2007). New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(13), 5229-5237. https://doi.org/10.1021/jf063372l

Bethancourt-Garcia, J. A., Vaz, R. Z., Vaz, F. N., Silva, W. B., Pascoal, L. L., Mendonça, F. S., ... & Restle, J. (2019). Pre-slaughter factors affecting the incidence of severe bruising in cattle carcasses. *Livestock Science*, *222*, 41-48. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.02.009

Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., & Bekhit, A. E. D. A. (2018). Role of calpain system in meat tenderness: A review. *Food Science and Human Wellness*, *7*(3), 196-204. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.08.002

Birhanu, A. F., Mummed, Y. Y., & Kurtu, M. Y. (2019). Level of bruising and DFD carcasses from bulls of Arsi, Boran and Harar cattle breeds in Ethiopia. *Open Journal of Animal Sciences*, *10*(1), 203-218. https://doi.org/10.4236/ojas.2020.101011

Botha, E. (2021). *Cumulative Incidence and Associated Risk Factors of Dark, Firm and Dry (DFD) Meat in South African Beef Carcasses* (Master's thesis, University of Pretoria (South Africa).

Bourguet, C., Deiss, V., Gobert, M., Durand, D., Boissy, A., & Terlouw, E. C. (2010). Characterising the emotional reactivity of cows to understand and predict their stress reactions to the slaughter procedure. *Applied Animal Behaviour Science*, *125*(1-2), 9-21. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.03.008

Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. Elsevier.

Boykin, C. A., Eastwood, L. C., Harris, M. K., Hale, D. S., Kerth, C. R., Griffin, D. B., ... & Savell, J. W. (2017). National Beef Quality Audit–2016: survey of carcass characteristics through instrument grading assessments. *Journal of animal science*, *95*(7), 3003-3011. https://doi.org/10.2527/jas.2017.1544

Bozzo, G., Barrasso, R., Marchetti, P., Roma, R., Samoilis, G., Tantillo, G., & Ceci, E. (2018). Analysis of stress indicators for evaluation of animal welfare and meat quality in traditional and Jewish slaughtering. *Animals*, *8*(4), 43. https://doi.org/10.3390/ani8040043

Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British medical bulletin*, *81*(1), 209-230. https://doi.org/10.1093/bmb/ldm014

Brunel, H. D. S. S., Dallago, B. S. L., de Almeida, A. M. B., de Assis, A. Z., de Bento Calzada, R. J., de Alvarenga, A. B. B., ... & Bernal, F. E. M. (2018). Hemato-biochemical profile of meat cattle submitted to different types of pre-loading handling and transport times. *International journal of veterinary science and medicine*, *6*(1), 90-96. https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.04.002

Burns, L. V., Ramos, A. T., Veiga, A. P. M., Moron, S. E., Cordova, F. M., Miotto, F. R. C., ... & Sousa, L. F. (2019). Evaluation of muscle tissue and liver glycogen of cattle submitted to transport over long distances and subjected to emergency slaughter. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *71*(3), 1067-1075. https://doi.org/10.1590/1678-4162-10233

Calvo, J. H., Iguácel, L. P., Kirinus, J. K., Serrano, M., Ripoll, G., Casasús, I., ... & Blanco, M. (2014). A new single nucleotide polymorphism in the calpastatin (CAST) gene associated with beef tenderness. *Meat Science*, *96*(2), 775-782. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.003

Carrasco-García, A. A., Pardío-Sedas, V. T., León-Banda, G. G., Ahuja-Aguirre, C., Paredes-Ramos, P., Hernández-Cruz, B. C., & Murillo, V. V. (2020). Effect of stress during slaughter on carcass characteristics and meat quality in tropical beef cattle. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, *33*(10), 1656. https://doi.org/10.5713/ajas.19.0804

Casas, E., White, S. N., Riley, D. G., Smith, T. P. L., Brenneman, R. A., Olson, T. A., ... & Chase Jr, C. C. (2005). Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos indicus cattle. *Journal of animal science*, *83*(1), 13-19. https://doi.org/10.2527/2005.83113x

Castro, S., Ríos, M., Ortiz, Y., Manrique, C., Jiménez, A., & Ariza, F. (2016). Association of single nucleotide polymorphisms in CAPN1, CAST and MB genes with meat color of Brahman and crossbreed cattle. *Meat Science*, *117*, 44-49. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.021

Cheong, H. S., Yoon, D. H., Park, B. L., Kim, L. H., Bae, J. S., Namgoong, S., ... & Shin, H. D. (2008). A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. *BMC genetics*, *9*, 1-7. https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-33

Cho, S., Kang, G., Seong, P. N., Park, B., & Kang, S. M. (2015). Effect of slaughter age on the antioxidant enzyme activity, color, and oxidative stability of Korean Hanwoo (Bos taurus coreanae) cow beef. *Meat Science*, *108*, 44-49. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.018

Chulayo, A. Y., & Muchenje, V. (2017). Activities of some stress enzymes as indicators of slaughter cattle welfare and their relationship with physico-chemical characteristics of beef. *Animal*, *11*(9), 1645-1652. https://doi.org/10.1017/S1751731117000222

Chulayo, A. Y., Bradley, G., & Muchenje, V. J. M. S. (2016). Effects of transport distance, lairage time and stunning efficiency on cortisol, glucose, HSPA1A and how they relate with meat quality in cattle. *Meat Science*, *117*, 89-96. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.001

Chung, H., & Davis, M. (2012). Effects of genetic variants for the calpastatin gene on calpastatin activity and meat tenderness in Hanwoo (Korean cattle). *Meat Science*, *90*(3), 711-714. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.10.017

Classen, H. G., Fischer, G., Marx, J., Schimatschek, H., Schmid, C., & Stein, C. (1987). Prevention of stress-induced damage in experimental animals and livestock by monomagnesium-L-aspartate hydrochloride. *Magnesium*, *6*(1), 34-39.

Clinquart, A., Ellies-Oury, M. P., Hocquette, J. F., Guillier, L., Santé-Lhoutellier, V., & Prache, S. (2022). On-farm and processing factors affecting bovine carcass and meat quality. *Animal*, *16*, 100426. https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100426

Cônsolo, N. R. B., Ferrari, V. B., Mesquita, L. G., Goulart, R. S., & e Silva, L. F. P. (2016). Zilpaterol hydrochloride improves beef yield, changes palatability traits, and increases calpain-calpastatin gene expression in Nellore heifers. *Meat Science*, *121*, 375-381. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.07.005

Coria, M. S., Carranza, P. G., & Palma, G. A. (2018). Calpain System in meat tenderization: A molecular approach. *Revista MVZ Córdoba*, *23*(1), 6523-6536. https://doi.org/10.21897/rmvz.1247

Corva, P., Soria, L., Schor, A., Villarreal, E., Cenci, M. P., Motter, M., ... & Naón, J. G. (2007). Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in Bos taurus beef cattle from Argentina. *Genetics and Molecular Biology*, *30*, 1064-1069. https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000600006

Cruz-Monterrosa, R. G., Reséndiz-Cruz, V., Rayas-Amor, A. A., López, M., & la Lama, G. C. M. D. (2017). Bruises in beef cattle at slaughter in Mexico: implications on quality, safety and shelf life of the meat. *Tropical animal health and production*, *49*, 145-152.

Curi, R. A., Chardulo, L. A. L., Mason, M. C., Arrigoni, M. D. B., Silveira, A. C., & De Oliveira, H. N. (2009). Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nellore beef cattle (Bos indicus) and in their crosses with Bos taurus. *Animal genetics*, *40*(4), 456-462. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01859.x

da Costa, M. J. P., Huertas, S. M., Gallo, C., & Dalla Costa, O. A. (2012). Strategies to promote farm animal welfare in Latin America and their effects on carcass and meat quality traits. *Meat science*, *92*(3), 221-226. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.005

Del Campo, M., Brito, G., De Lima, J. S., Hernández, P., & Montossi, F. (2010). Finishing diet, temperament and lairage time effects on carcass and meat quality traits in steers. *Meat Science*, *86*(4), 908-914. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.07.014

Doornenbal, H., Tong, A. K., & Murray, N. L. (1988). Reference values of blood parameters in beef cattle of different ages and stages of lactation. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *52*(1), 99.

Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International journal of food microbiology*, *157*(2), 130-141. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin*.

Dransfeld, E. (1994). Modelling post-mortem tenderisation—V: Inactivation of calpains. *Meat Science*, *37*(3), 391-409. https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90055-8

Drent, M., Cobben, N. A., Henderson, R. F., Wouters, E. F., & van Dieijen-Visser, M. (1996). Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *European Respiratory Journal*, *9*(8), 1736-1742. https://doi.org/10.1183/09031936.96.09081736

Duran, A., & Kahve, H. I. (2020). The effect of chitosan coating and vacuum packaging on the microbiological and chemical properties of beef. *Meat Science*, *162*, 107961. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107961

Ekerljung, M. (2012). *Candidate gene effects on beef quality* (No. 148).

England, E. M., Matarneh, S. K., Mitacek, R. M., Abraham, A., Ramanathan, R., Wicks, J. C., ... & Gerrard, D. E. (2018). Presence of oxygen and mitochondria in skeletal muscle early postmortem. *Meat Science*, *139*, 97-106. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.008

England, E. M., Matarneh, S. K., Oliver, E. M., Apaoblaza, A., Scheffler, T. L., Shi, H., & Gerrard, D. E. (2016). Excess glycogen does not resolve high ultimate pH of oxidative muscle. *Meat science*, *114*, 95-102. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.10.010

England, E. M., Matarneh, S. K., Scheffler, T. L., & Gerrard, D. E. (2017). Perimortal muscle metabolism and its effects on meat quality. In *New aspects of meat quality* (pp. 63-89). Woodhead Publishing https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00004-7.

England, E. M., Matarneh, S. K., Scheffler, T. L., Wachet, C., & Gerrard, D. E. (2014). pH inactivation of phosphofructokinase arrests postmortem glycolysis. *Meat science*, *98*(4), 850-857. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.07.019

Enriquez-Valencia, C. E., Pereira, G. L., Malheiros, J. M., de Vasconcelos Silva, J. A. I., Albuquerque, L. G., de Oliveira, H. N., ... & Curi, R. A. (2017). Effect of the g. 98535683A> G SNP in the CAST gene on meat traits of Nellore beef cattle (Bos indicus) and their crosses with Bos taurus. *Meat Science*, *123*, 64-66. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.09.003

Ertbjerg, P., & Puolanne, E. (2017). Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. *Meat science*, *132*, 139-152. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.261

Fabiansson, S., Erichsen, I., Reuterswärd, A. L., & Malmfors, G. (1984). The incidence of dark cutting beef in Sweden. *Meat science*, *10*(1), 21-33. https://doi.org/10.1016/0309-1740(84)90029-9

Febbraio, M. A., Steensberg, A., Walsh, R., Koukoulas, I., Hall, G. V., Saltin, B., & Pedersen, B. K. (2002). Reduced glycogen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle. *The Journal of physiology*, *538*(3), 911-917. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2001.013145

Ferguson, D. M., & Gerrard, D. E. (2014). Regulation of post-mortem glycolysis in ruminant muscle. *Animal Production Science*, *54*(4), 464-481. https://doi.org/10.1071/AN13088

Ferguson, D. M., & Warner, R. D. (2008). Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants?. *Meat science*, *80*(1), 12-19. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.004

Ferguson, D. M., Shaw, F. D., & Stark, J. L. (2007). Effect of reduced lairage duration on beef quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *47*(7), 770-773. https://doi.org/10.1071/EA05212

Ferreira, G. A., Barro, A. G., Terto, D. K., Bosso, E. B., Dos Santos, É. R., Ogawa, N. N., & Bridi, A. M. (2024). Sensory quality of beef with different ultimate pH values–A Brazilian perspective. *Meat Science*, *209*, 109415. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109415

Fischer, C., & Hamm, R. (1980). Biochemical studies on fast glycolysing bovine muscle. *Meat Science*, *4*(1), 41-49. https://doi.org/10.1016/0309-1740(80)90022-4

Fjelkner-Modig, S., & Ruderus, H. (1983). The influence of exhaustion and electrical stimulation on the meat quality of young bulls: Part 1—Post-mortem pH and temperature. *Meat science*, *8*(3), 185-201. https://doi.org/10.1016/0309-1740(83)90044-X

Francisco, C. L., Resende, F. D., Benatti, J. M. B., Castilhos, A. M., Cooke, R. F., & Jorge, A. M. (2015). Impacts of temperament on Nellore cattle: physiological responses, feedlot performance, and carcass characteristics. *Journal of animal science*, *93*(11), 5419-5429. https://doi.org/10.2527/jas.2015-9411

Franco, D., Rodríguez, E., Purriños, L., Crecente, S., Bermúdez, R., & Lorenzo, J. M. (2011). Meat quality of "Galician Mountain" foals breed. Effect of sex, slaughter age and livestock production system. *Meat Science*, *88*(2), 292-298. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.01.004

Gao, Y. U., Zhang, R., Hu, X., & Li, N. (2007). Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat science*, *77*(1), 36-45. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.026

Gebresenbet, G., Wikner, I., Bobobee, E. Y. H., Maria, G., & Villarroel, M. (2012). Effect of transport time and handling on physiological responses of cattle. *Journal of agricultural science and technology. A*, *2*(6A), 800.

Geletu, U. S., Usmael, M. A., Mummed, Y. Y., & Ibrahim, A. M. (2021). Quality of cattle meat and its compositional constituents. *Veterinary medicine international*, *2021*(1), 7340495. https://doi.org/10.1155/2021/7340495

Goll, D. E., Thompson, V. F., Li, H., Wei, W., & Cong, J. (2003). " The calpain system". Physiol Rev.

Gonzalez-Rivas, P. A., Chauhan, S. S., Ha, M., Fegan, N., Dunshea, F. R., & Warner, R. D. (2020). Effects of heat stress on animal physiology, metabolism, and meat quality: A review. *Meat science*, *162*, 108025. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108025

Grandin, T. (2020). Livestock handling at the abattoir: effects on welfare and meat quality. *Meat and Muscle Biology*, *4*(2). https://doi.org/10.22175/mmb.9457

Grandin, T., & Shivley, C. (2015). How farm animals react and perceive stressful situations such as handling, restraint, and transport. *Animals*, *5*(4), 1233-1251. https://doi.org/10.3390/ani5040409

Guignot, F., Vignon, X., & Monin, G. J. M. S. (1993). Post mortem evolution of myofilament spacing and extracellular space in veal muscle. *Meat Science*, *33*(3), 333-347. https://doi.org/10.1016/0309-1740(93)90005-3

Hemsworth, P. H., Rice, M., Karlen, M. G., Calleja, L., Barnett, J. L., Nash, J., & Coleman, G. J. (2011). Human–animal interactions at abattoirs: Relationships between handling and animal stress in sheep and cattle. *Applied animal behaviour science*, *135*(1-2), 24-33. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.09.007

Henckel, P., Karlsson, A., Jensen, M. T., Oksbjerg, N., & Petersen, J. S. (2002). Metabolic conditions in porcine longissimus muscle immediately pre-slaughter and its influence on peri-and post mortem energy metabolism. *Meat science*, *62*(2), 145-155. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00239-X

Hirwa, C. D. A., Wallace, P., Shen, X., Nie, Q., Yang, G., & Zhang, X. (2011). Genes related to economically important traits in beef cattle. *Asian J. Anim. Sci*, *5*, 34-45. https://doi.org/10.3923/ajas.2011.34.45

Holdstock, J., Aalhus, J. L., Uttaro, B. A., López-Campos, Ó., Larsen, I. L., & Bruce, H. L. (2014). The impact of ultimate pH on muscle characteristics and sensory attributes of the longissimus thoracis within the dark cutting (Canada B4) beef carcass grade. *Meat Science*, *98*(4), 842-849. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.07.029

Holman, B. W., Bekhit, A. E. D. A., Mao, Y., Zhang, Y., & Hopkins, D. L. (2022). The effect of wet ageing duration (up to 14 weeks) on the quality and shelf-life of grass and grain-fed beef. *Meat science*, *193*, 108928. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108928

Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat science*, *49*(4), 447-457. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00034-5

Honikel, K. O., Kim, C. J., Hamm, R., & Roncales, P. (1986). Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat science*, *16*(4), 267-282. https://doi.org/10.1016/0309-1740(86)90038-0

Hood, D. E., & Tarrant, P. V. (Eds.). (2012). *The problem of dark-cutting in beef* (Vol. 10). Springer Science & Business Media.

Hou, G., Huang, M., Gao, X., Li, J., Gao, H., Ren, H., & Xu, S. (2011). Association of Calpain 1 (CAPN1) and HRSP12 allelic variants in beef cattle with carcass traits. *African Journal of Biotechnology*, *10*(63), 13714-13718. https://doi.org/10.5897/AJB11.338

Huertas, S. M., Gil, A. D., Piaggio, J. M., & Van Eerdenburg, F. J. C. M. (2010). Transportation of beef cattle to slaughterhouses and how this relates to animal welfare and carcase bruising in an extensive production system. *Animal welfare*, *19*(3), 281-285. https://doi.org/10.1017/S0962728600001664

Huertas, S. M., van Eerdenburg, F., Gil, A., & Piaggio, J. (2015). Prevalence of carcass bruises as an indicator of welfare in beef cattle and the relation to the economic impact. *Veterinary Medicine and Science*, *1*(1), 9-15. https://doi.org/10.1002/vms3.2

Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat science*, *71*(1), 194-204. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022

Hultgren, J., Wiberg, S., Berg, C., Cvek, K., & Kolstrup, C. L. (2014). Cattle behaviours and stockperson actions related to impaired animal welfare at Swedish slaughter plants. *Applied Animal Behaviour Science*, *152*, 23-37. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2013.12.005

Ijaz, M., Li, X., Hou, C., Hussain, Z., & Zhang, D. (2024). Role of Heat-Shock Proteins in the Determination of Postmortem Metabolism and Meat Quality Development of DFD Meat. *Foods*, *13*(18), 2965. https://doi.org/10.3390/foods13182965

Ijaz, M., Li, X., Zhang, D., Hussain, Z., Ren, C., Bai, Y., & Zheng, X. (2020). Association between meat color of DFD beef and other quality attributes. *Meat Science*, *161*, 107954. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107954

Ijaz, M., Zhang, D., Hou, C., Mahmood, M., Hussain, Z., Zheng, X., & Li, X. (2022). Changes in postmortem metabolites profile of atypical and typical DFD beef. *Meat Science*, *193*, 108922. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108922

INN, Instituto Nacional de Normalización, Chile (2002) Canales deBovino. Definiciones y Tipificación. Norma Chilena Oficial NCH. 1306 Of. 02

Jain, A. K. (1989). *Fundamentals of digital image processing*. Prentice-Hall, Inc..

Jain, N. C. (1993). Essentials of veterinary hematology.

Jeacocke, R. E. (1993). The concentrations of free magnesium and free calcium ions both increase in skeletal muscle fibres entering rigor mortis. *Meat Science*, *35*(1), 27-45. https://doi.org/10.1016/0309-1740(93)90068-S

Juszczuk-Kubiak, E., Sakowski, T., Flisikowski, K., Wiciñska, K., Oprzadek, J., & Rosochacki, S. J. (2004). Bovine mu-calpain (CAPN1) gene: new SNP within intron 14. *Journal of applied genetics*, *45*(4), 457-460.

Kadim, I. T., Mahgoub, O., Al-Ajmi, D. S., Al-Maqbaly, R. S., Al-Mugheiry, S. M., & Bartolome, D. Y. (2004). The influence of season on quality characteristics of hot-boned beef m. longissimus thoracis. *Meat Science*, *66*(4), 831-836. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.08.001

Kaplanová, K., Dufek, A., Dračková, E., Simeonovová, J., Šubrt, J., Vrtková, I., & Dvořák, J. (2013). The association of CAPN1, CAST, SCD, and FASN polymorphisms with beef quality traits in commercial crossbred cattle in the Czech Republic Original Paper. *Czech Journal of Animal Science*, *58*(11). https://doi.org/10.17221/7044-CJAS

Kaur, M., Williams, M., Bissett, A., Ross, T., & Bowman, J. P. (2021). Effect of abattoir, livestock species and storage temperature on bacterial community dynamics and sensory properties of vacuum packaged red meat. *Food Microbiology*, *94*, 103648. https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103648

Kim, Y. H. B., Stuart, A., Black, C., & Rosenvold, K. (2012). Effect of lamb age and retail packaging types on the quality of long-term chilled lamb loins. *Meat Science*, *90*(4), 962-966. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.040

King, D. A., Pfeiffer, C. S., Randel, R. D., Welsh Jr, T. H., Oliphint, R. A., Baird, B. E., ... & Savell, J. W. (2006). Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. *Meat science*, *74*(3), 546-556. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.004

Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat science*, *74*(1), 34-43. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.025

Kostusiak, P., Slósarz, J., Gołębiewski, M., Grodkowski, G., & Puppel, K. (2023). Polymorphism of genes and their impact on beef quality. *Current Issues in Molecular Biology*, *45*(6), 4749-4762.

Kültz, D. (2003). Evolution of the cellular stress proteome: from monophyletic origin to ubiquitous function. *Journal of Experimental Biology*, *206*(18), 3119-3124. https://doi.org/10.1242/jeb.00549

Kurebayashi, N., Harkins, A. B., & Baylor, S. M. (1993). Use of fura red as an intracellular calcium indicator in frog skeletal muscle fibers. *Biophysical journal*, *64*(6), 1934-1960.

Laboklin: LaboRef App (2024). "Reference values" (LaboRef app). Accessed June 01, 2025. https://laboklin.com/wpcontent/uploads/2024/09/Referenzwerte_Dog_Cat_Rabbit_Pig__EN_07.2024.pdf

Lavieri, N., & Williams, S. K. (2014). Effects of packaging systems and fat concentrations on microbiology, sensory and physical properties of ground beef stored at 4±1 C for 25 days. *Meat science*, *97*(4), 534-541. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.014

Leal-Gutiérrez, J. D., Elzo, M. A., Johnson, D. D., Scheffler, T. L., Scheffler, J. M., & Mateescu, R. G. (2018). Association of μ-calpain and calpastatin polymorphisms with meat tenderness in a brahman–angus population. *Frontiers in genetics*, *9*, 56. https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00056

Lee, W. C., Hsiao, H. C., Wu, Y. L., Lin, J. H., Lee, Y. P., Fung, H. P., ... & Chu, R. M. (2003). Serum C-reactive protein in dairy herds. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *67*(2), 102.

Lepetit, J. (2007). A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. *Meat Science*, *76*(1), 147-159. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.027

Li, J., Zhang, L. P., Gan, Q. F., Li, J. Y., Gao, H. J., Yuan, Z. R., ... & Xu, S. Z. (2010). Association of CAST gene polymorphisms with carcass and meat quality traits in Chinese commercial cattle herds. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *23*(11), 1405-1411. https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90602

Li, X., Ekerljung, M., Lundström, K., & Lundén, A. (2013). Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat science*, *94*(2), 153-158. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.010

Lian, T., Wang, L., & Liu, Y. (2013). A new insight into the role of calpains in post-mortem meat tenderization in domestic animals: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *26*(3), 443. https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12365

Lomiwes, D., Farouk, M. M., Wu, G., & Young, O. A. (2014). The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH. *Meat Science*, *96*(1), 646-651. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.022

Loredo-Osti, J., Sánchez-López, E., Barreras-Serrano, A., Figueroa-Saavedra, F., Pérez-Linares, C., Ruiz-Albarrán, M., & Domínguez-Muñoz, M. Á. (2019). An evaluation of environmental, intrinsic and pre-and post-slaughter risk factors associated to dark-cutting beef in a Federal

Inspected Type slaughter plant. *Meat Science*, *150*, 85-92. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.12.007

Losada-Espinosa, N., Villarroel, M., María, G. A., & Miranda-de la Lama, G. C. (2018). Pre-slaughter cattle welfare indicators for use in commercial abattoirs with voluntary monitoring systems: A systematic review. *Meat Science*, *138*, 34-48. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.004

Loudon, K. M. W., Lean, I. J., Pethick, D. W., Gardner, G. E., Grubb, L. J., Evans, A. C., & McGilchrist, P. (2018). On farm factors increasing dark cutting in pasture finished beef cattle. *Meat science*, 144, 110-117 https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.011

M. Kovačević - Filipović, D. Gvozdić, L. Spasojević Kosić, J. Francuski Andrić, T. Božić, Praktikum iz patološke fiziologije domaćih životinja, *Naučna KMD*, Beograd, 2016

MacDougall, D. B. (1982). Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry*, *9*(1-2), 75-88. https://doi.org/10.1016/0308-8146(82)90070-X

Mach, N., Bach, A., Velarde, A., & Devant, M. (2008). Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Science*, *78*(3), 232-238. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.021

Mahmood, S., Basarab, J. A., Dixon, W. T., & Bruce, H. L. (2016). Relationship between phenotype, carcass characteristics and the incidence of dark cutting in heifers. *Meat Science*, *121*, 261-271. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.020

Malheiros, J. M., Enríquez-Valencia, C. E., da Silva Duran, B. O., de Paula, T. G., Curi, R. A., de Vasconcelos Silva, J. A. I., ... & Chardulo, L. A. L. (2018). Association of CAST2, HSP90AA1, DNAJA1 and HSPB1 genes with meat tenderness in Nellore cattle. *Meat science*, *138*, 49-52. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.01.003

Mancini, R. A., & Hunt, M. (2005). Current research in meat color. *Meat science*, *71*(1), 100-121. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003

Matarneh, S. K., Scheffler, T. L., & Gerrard, D. E. (2023). The conversion of muscle to meat. In *Lawrie's meat science* (pp. 159-194). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85408-5.00010-8

Matarneh, S. K., Silva, S. L., & Gerrard, D. E. (2021). New insights in muscle biology that alter meat quality. *Annual review of animal biosciences*, *9*(1), 355-377. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083902

McKenna, D. R., Mies, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W., & Savell, J. W. (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat science*, *70*(4), 665-682. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.02.016

Melody, J. L., Lonergan, S. M., Rowe, L. J., Huiatt, T. W., Mayes, M. S., & Huff-Lonergan, E. (2004). Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *Journal of animal science*, *82*(4), 1195-1205. https://doi.org/10.2527/2004.8241195x

Mendonça, F. S., Vaz, R. Z., Cardoso, F. F., Restle, J., Vaz, F. N., Pascoal, L. L., ... & Boligon, A. A. (2016). Pre-slaughtering factors related to bruises on cattle carcasses. *Animal Production Science*, *58*(2), 385-392. https://doi.org/10.1071/AN16177

Miranda-De La Lama, G. C., Villarroel, M., & María, G. A. (2014). Livestock transport from the perspective of the pre-slaughter logistic chain: a review. *Meat Science*, *98*(1), 9-20. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.005

Mitlohner, F. M., Galyean, M. L., & McGlone, J. J. (2002). Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. *Journal of animal science*, *80*(8), 2043-2050. https://doi.org/10.1093/ansci/80.8.2043

Monin, G. (1991). Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *Productions Animales*, *4*(2), 151-160.

Monin, G., & Sellier, P. (1985). Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-mortem period: The case of the Hampshire breed. *Meat science*, *13*(1), 49-63. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(85)80004-8

Moore, M. C., Gray, G. D., Hale, D. S., Kerth, C. R., Griffin, D. B., Savell, J. W., ... & O'Connor, M. E. (2012). National Beef Quality Audit–2011: In-plant survey of targeted carcass characteristics related to quality, quantity, value, and marketing of fed steers and heifers. *Journal of Animal Science*, *90*(13), 5143-5151. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5550

Morris, C. A., Cullen, N. G., Hickey, S. M., Dobbie, P. M., Veenvliet, B. A., Manley, T. R., ... & Wilson, T. (2006). Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked M. longissimus dorsi steaks from Jersey× Limousin, Angus and Hereford-cross cattle. *Animal genetics*, *37*(4), 411-414. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2006.01483.x

Moura, S. V. D., Silveira, I. D. B., Ferreira, O. G. L., Mendonça, F. S., Moreira, S. M., Restle, J., ... & Vaz, R. Z. (2021). Lairage periods on temperament score and meat quality of beef cattle. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *56*, e02349. https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2021.v56.02349

Mpakama, T., Chulayo, A. Y., & Muchenje, V. (2014). Bruising in slaughter cattle and its relationship with creatine kinase levels and beef quality as affected by animal related factors. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *27*(5), 717. https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13483

Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Raats, J. G., & Strydom, P. E. (2008). Meat quality of Nguni, Bonsmara and Aberdeen Angus steers raised on natural pasture in the Eastern Cape, South Africa. *Meat Science*, *79*(1), 20-28. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.026

OECD/FAO (2024), OECD-FAO Agricultural Outlook 2024-2033, OECD Publishing, Paris/FAO, Rome, https://doi.org/10.1787/4c5d2cfb-en.

Olaoye, O. A. (2011). Meat: An overview of its composition, biochemical changes and associated microbial agents. *International Food Research Journal*, 18(3).

Ouali, A., Gagaoua, M., Boudida, Y., Becila, S., Boudjellal, A., Herrera-Mendez, C. H., & Sentandreu, M. A. (2013). Biomarkers of meat tenderness: present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat science*, *95*(4), 854-870. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010

Özdemir, S., & Ekiz, B. (2023). Effects of certain risk factors on presence and severity of carcass bruising in cattle: A study in Turkey. *Meat Science*, *202*, 109199. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109199

Page, B. T., Casas, E., Heaton, M. P., Cullen, N. G., Hyndman, D. L., Morris, C. A., ... & Smith, T. P. L. (2002). Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of animal science*, *80*(12), 3077-3085. https://doi.org/10.2527/2002.80123077x

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 science*, *89*(2), 111-124. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007

Pennacchia, C., Ercolini, D., & Villani, F. (2011). Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. Food microbiology, 28(1), 84-93.

Picard, B., & Gagaoua, M. (2020). Muscle fiber properties in cattle and their relationships with meat qualities: An overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(22), 6021-6039. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02086

Pighin, D. G., Davies, P., Grigioni, G., Pazos, A. A., Ceconi, I., Mendez, D., ... & Gonzalez, C. B. (2013). Effect of slaughter handling conditions and animal temperament on bovine meat quality markers. *Archivos de zootecnia*, *62*(239), 399-409.

Pinto, L. F. B., Ferraz, J. B. S., Meirelles, F. V., Eler, J. P., Rezende, F. M. D., Carvalho, M. E., ... & Silva, R. C. G. (2010). Association of SNPs on CAPN 1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, *9*(3), 1431-1442.

Pintos, D., & Corva, P. M. (2011). Association between molecular markers for beef tenderness and growth traits in Argentinian angus cattle. *Animal Genetics*, *42*(3), 329-332. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02160.x

Pösö, A. R., & Puolanne, E. (2005). Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat science*, *70*(3), 423-434. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.12.017

Purslow, P. P., Gagaoua, M., & Warner, R. D. (2021). Insights on meat quality from combining traditional studies and proteomics. *Meat science*, *174*, 108423. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108423

Qiao, M., Fletcher, D. L., Smith, D. P., & Northcutt, J. K. (2001). The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry science*, *80*(5), 676-680. https://doi.org/10.1093/ps/80.5.676

R. C. Rendle and G. Keeley, "Chemistry in the meat industry,"in VAnimal Products A-Meat, H. Wansbroug, Ed., New York, NY, USA, 1998.

Rabasa, C., & Dickson, S. L. (2016). Impact of stress on metabolism and energy balance. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *9*, 71-77. https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.01.011

Raynaud, P., Jayat-Vignoles, C., Laforêt, M. P., Levéziel, H., & Amarger, V. (2005). Four promoters direct expression of the calpastatin gene. *Archives of biochemistry and biophysics*, *437*(1), 69-77. https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.02.026

Reardon, W., Mullen, A. M., Sweeney, T., & Hamill, R. M. (2010). Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine M. longissimus and M. semimembranosus. *Meat Science*, *86*(2), 270-275. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.013

Republički zavod za statistiku, RZS (2025) https://data.stat.gov.rs/Home/Result/130202010401?languageCode=sr-Latn&displayMode=table

Richardson, C. (2005). *Reducing cattle shrink*. Ministry of Agriculture, Food & Rural Affairs.

Robert, F., & Pelletier, J. (2018). Exploring the impact of single-nucleotide polymorphisms on translation. *Frontiers in genetics*, *9*, 507. https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00507

Romero, M. H., Rodríguez-Palomares, M., & Sánchez, J. A. (2020). Animal-based measurements to assess the welfare of dairy cull cows during pre-slaughter. *Animals*, *10*(10), 1802. https://doi.org/10.3390/ani10101802

Romero, M. H., Uribe-Velásquez, L. F., Sánchez, J. A., & Miranda-de La Lama, G. C. (2013). Risk factors influencing bruising and high muscle pH in Colombian cattle carcasses due to transport and pre-slaughter operations. *Meat science*, *95*(2), 256-263. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.014

Romero, M. H., Uribe-Velásquez, L. F., Sánchez, J. A., Rayas-Amor, A. A., & Miranda-de La Lama, G. C. (2017). Conventional versus modern abattoirs in Colombia: Impacts on welfare indicators and risk factors for high muscle pH in commercial Zebu young bulls. *Meat Science*, *123*, 173-181. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.003

Rosa, A., Fonseca, R., Balieiro, J. C., Poleti, M. D., Domenech-Pérez, K., Farnetani, B., & Eler, J. (2016). Incidence of DFD meat on Brazilian beef cuts. *Meat Science*, *112*, 132-133.

Rovira, P., Brugnini, G., Rodriguez, J., Cabrera, M. C., Saadoun, A., de Souza, G., ... & Rufo, C. (2023). Microbiological changes during long-storage of beef meat under different temperature and vacuum-packaging conditions. *Foods*, *12*(4), 694. https://doi.org/10.3390/foods12040694

Rubio Lozano, M. S., Alfaro-Zavala, S., Sifuentes-Rincón, A. M., Parra-Bracamonte, G. M., Braña Varela, D., Medina, R. D. M., ... & Figueroa Saavedra, F. (2016). Meat tenderness genetic and genomic variation sources in commercial beef cattle. *Journal of Food Quality*, *39*(2), 150-156. https://doi.org/10.1111/jfq.12185

Rustan, A. C., & Drevon, C. A. (2005). Fatty acids: structures and properties. *Encyclopedia of life sciences*, *1*, 1-7.

Saleem, M. U., & Majeed, K. A. (2014). Chilling systems and effect of temperature on tenderness and appearance of meat post slaughter: A Review. *Inter. J. Adv. Res*, *2*, 129-135.

Schenkel, F. S., Miller, S. P., Jiang, Z., Mandell, I. B., Ye, X., Li, H., & Wilton, J. W. (2006). Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of animal science*, *84*(2), 291-299. https://doi.org/10.2527/2006.842291x

Schwartzkopf-Genswein, K. S., Faucitano, L., Dadgar, S., Shand, P., González, L. A., & Crowe, T. G. (2012). Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on animal welfare, carcass and meat quality: A review. *Meat science*, *92*(3), 227-243. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.010

Seideman, S. C., Cross, H. R., Smith, G. C., & Durland, P. R. (1984). Factors associated with fresh meat color: A review. *Journal of Food Quality*, *6*(3), 211-237. https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1984.tb00826.x

Shaw, F. D., & Tume, R. K. (1992). The assessment of pre-slaughter and slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents—a review of recent work. *Meat science*, *32*(3), 311-329. https://doi.org/10.1016/0309-1740(92)90095-L

Shi, M., Gao, X., Ren, H., Yuan, Z., Wu, H., Li, J., ... & Xu, S. (2011). Association analysis of CAPN1 gene variants with carcass and meat quality traits in Chinese native cattle. *African Journal of Biotechnology*, *10*(75), 17367-17371. https://doi.org/10.5897/AJB11.2306

Shorthose, W. R., & Harris, P. V. (1990). Effect of animal age on the tenderness of selected beef muscles. *Journal of food science*, *55*(1), 1-8. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06004.x

Simova, V., Voslarova, E., Vecerek, V., Passantino, A., & Bedanova, I. (2017). Effects of travel distance and season of the year on transport-related mortality in cattle. *Animal Science Journal*, *88*(3), 526-532. https://doi.org/10.1111/asj.12658

Steel, C., Mcgilchrist, P., Rivas, P. G., Warner, R., & Tarr, G. (2018). Effect of weather conditions ante-mortem on the incidence of dark cutting in feedlot finished cattle-A retrospective analysis. *New South Wales: Final report, Meat and Livestock Australia Limited, Locked Bag*, 1-58.

Stewart, S. M., McGilchrist, P., Gardner, G. E., & Pethick, D. W. (2018). Association between loin ultimate pH and plasma indicators of pre-slaughter stressors in Australian lamb. *Meat and Muscle Biology*, *2*(1). https://doi.org/10.22175/mmb2017.10.0050

Strappini, A. C., Frankena, K., Metz, J. H. M., Gallo, C., & Kemp, B. (2012). Characteristics of bruises in carcasses of cows sourced from farms or from livestock markets. *Animal*, *6*(3), 502-509. https://doi.org/10.1017/S1751731111001698

Strappini, A. C., Metz, J. H. M., Gallo, C. B., & Kemp, B. (2009). Origin and assessment of bruises in beef cattle at slaughter. *Animal*, *3*(5), 728-736. https://doi.org/10.1017/S1751731109004091

Strappini, A. C., Metz, J. H. M., Gallo, C., Frankena, K., Vargas, R., De Freslon, I., & Kemp, B. (2013). Bruises in culled cows: when, where and how are they inflicted?. *Animal*, *7*(3), 485-491. https://doi.org/10.1017/S1751731112001863

Sullivan, P., Davis, M., Bretón, J., & Edwards-Callaway, L. (2022). Investigating the impact of pre-slaughter management factors on meat quality outcomes in cattle raised for beef: a scoping review. *Frontiers in Animal Science*, *3*, 1065002. https://doi.org/10.3389/fanim.2022.1065002

Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. *Annual review of food science and technology*, *4*(1), 79-99. https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182623

Tadich, N., Gallo, C., Bustamante, H., Schwerter, M., & Van Schaik, G. (2005). Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livestock Production Science*, *93*(3), 223-233. https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.10.004

Tait Jr, R. G., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., King, D. A., Keele, J. W., Casas, E., ... & Bennett, G. L. (2014). CAPN1, CAST, and DGAT1 genetic effects on preweaning performance, carcass quality traits, and residual variance of tenderness in a beef cattle population selected for haplotype and allele equalization. *Journal of animal science*, *92*(12), 5382-5393. https://doi.org/10.2527/jas.2014-8211

Taylor, A. A., & Shaw, B. G. (1977). Hie effect of meat pH and package permeability on putrefaction and greening in vacuum packed beef. *International Journal of Food Science and Technology*, *12*(5), 515-521. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00136.x

Teiga-Teixeira, P., Moura, D., García-Díez, J., & Esteves, A. (2021). Characterization of carcass bruises in cattle in Northern Portugal, a preliminary study. *Italian Journal of Animal Science*, *20*(1), 1168-1174. https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1957030

Teke, B., Akdag, F., Ekiz, B., & Ugurlu, M. (2014). Effects of different lairage times after long distance transportation on carcass and meat quality characteristics of Hungarian Simmental bulls. *Meat Science*, *96*(1), 224-229. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.009

Terlouw, C. (2015). *Stress reactivity, stress at slaughter and meat quality*. CRC Press, Philadelphia, Pa, USA.

Tomasevic, I. B. (2018). Computer vision system for color measurements of meat and meat products: A review. *Theory and practice of meat processing*, *3*(4), 4-15. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-4-4-15

Tomasević, I., Tomović, V., Milovanović, B., Lorenzo, J., Đorđević, V., Karabasil, N., & Đekić, I. (2019). Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. *Meat science*, *148*, 5-12. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.09.015

Van De Water, G., Verjans, F., & Geers, R. (2003). The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves; pH and colour profiles of veal. *Livestock Production Science*, *82*(2-3), 171-179. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00010-1

Varnam, A., & Sutherland, J. P. (1995). *Meat and meat products: technology, chemistry and microbiology* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.

Viljoen, H. F. (2000). *Meat quality of dark-cutting cattle*. University of Pretoria (South Africa).

Villarroel, M., María, G. A., Sierra, I., Saitudo, C., Garcia-Belenguer, S., & Gebresenbet, G. (2001). Critical points in the transport of cattle to slaughter in Spain that may compromise the animals' welfare. *Veterinary Record*, *149*(6), 173-176. https://doi.org/10.1136/vr.149.6.173

Warner, R. D., Dunshea, F. R., Gutzke, D., Lau, J., & Kearney, G. (2014). Factors influencing the incidence of high rigor temperature in beef carcasses in Australia. *Animal Production Science*, *54*(4), 363-374. https://doi.org/10.1071/AN13455

Warner, R. D., Ferguson, D. M., Cottrell, J. J., & Knee, B. W. (2007). Acute stress induced by the preslaughter use of electric prodders causes tougher beef meat. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *47*(7), 782-788. https://doi.org/10.1071/EA05155

Warriss, P. D. (1990). The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass and meat quality. *Applied animal behaviour science*, *28*(1-2), 171-186. https://doi.org/10.1016/0168-1591(90)90052-F

Weeks, C. A., McNally, P. W., & Warriss, P. D. (2002). Influence of the design of facilities at auction markets and animal handling procedures on bruising in cattle. *Veterinary Record*, *150*(24), 743-748. https://doi.org/10.1136/vr.150.24.743

Węglarz, A. (2010). Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season.

Węglarz, A., Balakowska, A., Kułaj, D., & Makulska, J. (2020). AssociAtions of CAST, CAPN1 And MSTN genes polymorphism with slAughter vAlue And beef quAlity–A review. *Annals of Animal Science*, *20*(3), 757-774. https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0006

Welfare Quality® (2009). Welfare Quality® assessment protocol for cattle. Welfare Quality®

Werner, M., Hepp, C., Soto, C., Gallardo, P., Bustamante, H., & Gallo, C. (2013). Effects of a long distance transport and subsequent recovery in recently weaned crossbred beef calves in Southern Chile. *Livestock Science*, *152*(1), 42-46. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.007

Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (2000). Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*, *78*(4), 958-965. https://doi.org/10.2527/2000.784958x

White, S. N., Casas, E., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., ... & Smith, T. P. L. (2005). A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of Bos indicus, Bos taurus, and crossbred descent. *Journal of animal science*, *83*(9), 2001-2008. https://doi.org/10.2527/2005.8392001x

Wicińska, K., & Szreder, T. S. (2004). A novel RFLP/AluI polymorphism of the bovine calpastatin (CAST) gene and its association with selected traits of beef. *Animal Science Papers and Reports*, *22*(2), 195-204.

Wicks, J. C., Beline, M., Gómez, J. M., Silva, S. L., Luzardo, S., & Gerrard, D. E. (2019, August). Muscle energy metabolism, growth and meat quality. In *Proceedings of the 65th International Congress of Meat Science and Technology* (pp. 4-9).

Zalewska, M., Puppel, K., & Sakowski, T. (2021). Associations between gene polymorphisms and selected meat traits in cattle—A review. *Animal bioscience*, *34*(9), 1425. https://doi.org/10.5713/ab.20.0672

Zanardi, E., De Luca, S., Alborali, G. L., Ianieri, A., Varrà, M. O., Romeo, C., & Ghidini, S. (2022). Relationship between bruises on carcasses of beef cattle and transport-related factors. *Animals*, *12*(15), 1997. https://doi.org/10.3390/ani12151997

Zhai, C., Djimsa, B. A., Prenni, J. E., Woerner, D. R., Belk, K. E., & Nair, M. N. (2020). Tandem mass tag labeling to characterize muscle-specific proteome changes in beef during early postmortem period. *Journal of Proteomics*, *222*, 103794. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103794

Прилог 1.

Протокол: Испитивање услова транспорта бр.__________

Општи подаци бр.________

Температура: место набавке_________ Влажност: место набавке_________

кланица_______________ кланица_____________

Животињска врста: раса________________________

старост______________________

пол________________________

Испитивање услова транспорта

Дужина транспорта:___________________________

Удаљеност фарма-кланица:_____________________

Маса пошиљке:________________________________

Број животиња:_______________________________

Доступна подна површина у возилу:____

Присуство и тип простирке у возилу____

Начин фиксирања животиња:____

Вентилација: активна/пасивна____

Прање и дезинфекција возила:____

____

Број повређених жувотиња:_____________________

Број болесних животиња:_______________________

Број угинулих животиња:________________________

Прилог 2.

Протокол: Испитивање услова у депоу бр.__________

Број животиња у боксу____

Дужина боравка грла у боксу____

Доступна подна површина____

Тип пода____

Врста простирке____

Број повређених животиња____

Број угинулих животиња____

I Залихе хране у депоу: 0 нема доказа о присуству хране

1 неки докази о присуству хране (< 2000g)

2 јасни докази о присуству хране

Врста хране____

II Залихе воде у депоу: број појилица____

тип и димензије____

чистоћа____

функционалност____

ризик од повређивања____________________________________

Прилог 3.

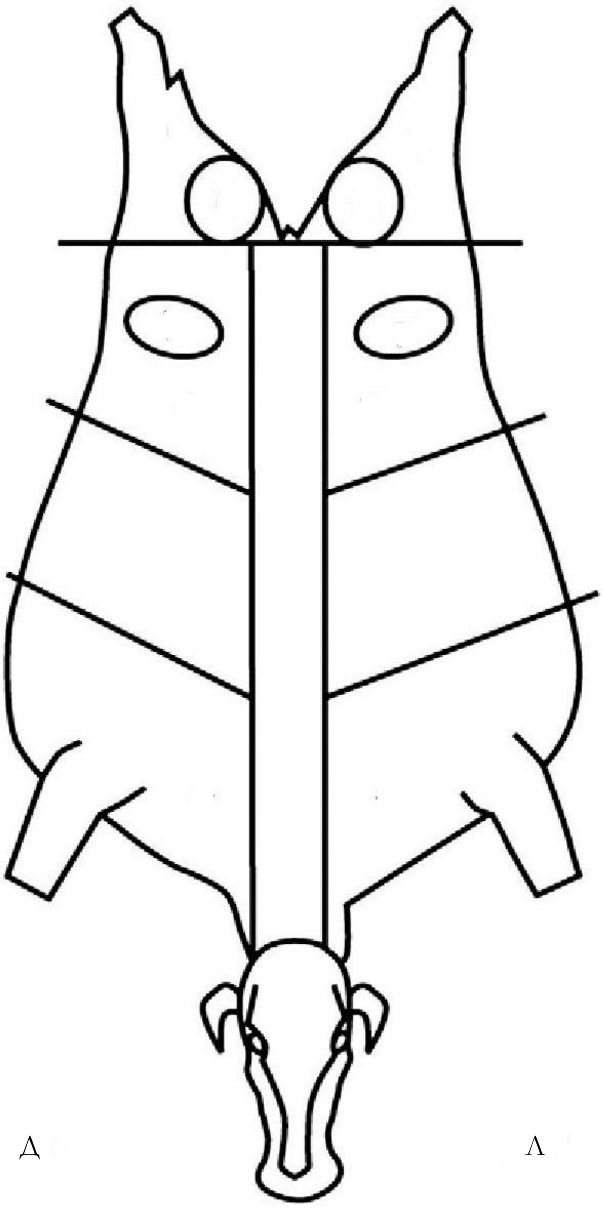
Протокол: Процена добробити током истовара бр.__________

Време од приспећа пошиљке у кланицу до почетка истовара:________________________

Редни број	Клизање	Падање	Заустављање	Покушај окретања	Окретање у круг	Кретање уназад	Хромост	Принудне методе *као и регију тела
							0 1 2	
							0 1 2	
							0 1 2	
							0 1 2	
							0 1 2	

Прилог 4.

Протокол: Испитивање повреда на трупу према *Romero* и сар. (2013)



Величина	**Старост**	**Облик**	
1. < 8cm	а. црвена и хеморагична	кружна	* I sc.
2. 8 -16cm	б. рђаво-наранџаста	линеарна	II sc+m
3. > 16cm	ц. жуте прмене	ирегуларна	

Редни бр._____/бр. животиње__________________________

Прилог 5.

Протокол: Испитивање патоморфолошких промена бр.__________

Редни бр..______/бр. животиње____________________

Јетра: Апцеси_________/локализација_____________________/руптура______________
величина-cm____
Хидатидне цисте____
Цироза____
Остале промене____

Плућа: Конгестија____
Емфизем____
Гној____
Остале промене____
Промене на режњу: a) б.о b) < 50% c) > 50%

Редни бр..______/бр. животиње____________________

Јетра: Апцеси_________/локализација_____________________/руптура______________
величина-cm____
Хидатидне цисте____
Цироза____
Остале промене____

Плућа: Конгестија____
Емфизем____
Гној____
Остале промене____
Промене на режњу: a) б.о b) < 50% c) > 50%

Редни бр..______/бр. животиње____________________

Јетра: Апцеси_________/локализација_____________________/руптура______________
величина-cm____
Хидатидне цисте____
Цироза____
Остале промене____

Плућа: Конгестија____
Емфизем____
Гној____
Остале промене____
Промене на режњу: a) б.о b) < 50% c) > 50%

Прилог 6.

Протокол: Испитивање квалитета меса бр.__________

Редни бр.______/бр. животиње_______________________________

телесна маса______________ маса топлог трупа______________

маса хладног трупа______________ SEUROP________________

pH^{45min} ____________ pH^{24h} ____________

T^{45min} _____________ T^{24h} ______________

drip loss_____________ cooking loss______________

L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________
L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________
L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________

Редни бр.______/бр. животиње_______________________________

телесна маса______________ маса топлог трупа______________

маса хладног трупа______________ SEUROP________________

pH^{45min} ____________ pH^{24h} ____________

T^{45min} _____________ T^{24h} ______________

drip loss_____________ cooking loss______________

L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________
L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________
L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________

Редни бр.______/бр. животиње_______________________________

телесна маса______________ маса топлог трупа______________

маса хладног трупа______________ SEUROP________________

pH^{45min} ____________ pH^{24h} ____________

T^{45min} _____________ T^{24h} ______________

drip loss_____________ cooking loss______________

L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________
L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________
L*_________ a*_________ b*_________ C*_________ H*_________

БИОГРАФИЈА

Иван Вићић је рођен 29.10.1991. године у Бијељини, Република Српска, Босна и Херцеговина. Основну школу је завршио у Угљевику, средњу Пољопривредну и медицинску школу у Бијељини. Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду уписао је школске 2010/2011 године и на истом дипломирао 28.09.2016. године са просечном оценом 9,61 (девет и 61/100) и стекао академски назив – доктор ветеринарске медицине. На истом Факултету уписује докторске академске студије школске 2016/2017 године и положио је све испите предвиђене Планом и програмом студија са просечном оценом 10,0 (десет). На Факултету ветеринарске медицине Универзитета у Београду, Катедри за хигијену и технологију намирница анималног порекла, запослен од јула 2018. године као истраживач приправник (Пројекат ТР 31034). У звање истраживач сарадник је изабран октобра 2021. године, у звање асистента за ужу научну област Хигијена и технологија меса почев од фебруара 2022. године, на Катедри за хигијену и технологију намирница Факултета ветеринарске медицине. Учесник је међународног COST пројекта CA 18105 "Risk-based meat inspection and integrated meat safety assurance – RIBMINS" у периоду од фебруара 2021. године до септембра 2023. године, као и Призма пројекта Фонда за науку Министарста науке под називом "Tracking antimicrobial resistance in diverse ecological niches - one health perspective - TRACE" за период од 2023.-2026. године.

У оквиру пројектних задатака, едукативног усавршавања и извођења експерименталних студија, активно је учествовао у раду следећих институција: Ветеринарски специјалистички институт Панчево, Научни институт за ветеринарство Србије, Завод за млекарство, Пољопривредни факултет Универзитета у Београду, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду, Институт за микробиологију Медицински факултет Универзитета у Београду. Иван Вићић је успешно овладао микробиолошким, серолошким, молекуларним и инструменталним техникама испитивања хране а које укључују: Изолација, идентификација и биохемијска потврда микроорганизама од значаја за критеријум хигијене процеса и критеријум безбедности хране; Технике квалитативне и квантитативне ELISE; Методе светлосне и флуоресцентне микроскопије; Комет тест; Изолација ДНК и РНК, комерцијалним и алтернативним приступом; Оптимизација ланчане реакције полимеризације (PCR); RFLP-PCR; Анализа експресије гена путем квантитативног real-time PCR; Биоинформатичка обрада NGS података – SNP Calling Variants, small RNA determination; 16s rRNA секвенцирање - метагеномски приступ; као и Испитивање текстуре меса, инструментално помоћу TA.XT plus Texture Analyzer и др. Завршио је обуке на даљину преко пројекта CA 18105: "Training School on Future Meat Safety" у периоду од 03.02.2021 до 05.02.2021; "Training School on Farm and Abattoir Interventions in a Risk-Based Meat Safety Assurance System" од 20.06.2022 до 22.06.2022; "Risk-based Meat Safety Assurance Systems focusing on risk categorisation of farms and abattoirs" од 13.06.2023 до 16.06.2023. Учесник је обуке BTSF Академије "Prevention and control of antimicrobial resistance (AMR) in the context of a "One Health" approach" од 07.02.2022. до 11.02.2022. године. Такође, завршио је обуку "Induction training of the European Food Risk Assessment Fellowship Programme" у периоду од 05.09.2022. до 23.09.2022. године, Европска агенција за безбедност хране, Парма, Италија. Преко CEEPUS размене студената од 08.03.2019. до 11.04.2019. године боравио је на Ветеринарском факултету Свеучилишта у Загребу, Заводу за хигијену, технологију и сигурност хране. Такође, преко Erasmus+ програма је боравио на Шведском Универзитету Пољопривредних наука, Департману за Биомедицинске науке и ветеринарско јавно здравље у периоду од 28.08.2023. до 27.10.2023. године.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Иван Вићић

број уписа 2016/5002

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

"Утицај *pre-mortem* услова на показатеље стреса и квалитет меса говеда"

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 25.06.2025.

____

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Иван Вићић

Број уписа 2016/5002

Студијски програм Докторске академске студије

Наслов рада "Утицај *pre-mortem* услова на показатеље стреса и квалитет меса говеда"

Ментор проф. др Неђељко Карабасил и др Бојана Бановић Ђери

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 25.06.2025.

____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

”Утицај *pre-mortem* услова на показатеље стреса и квалитет меса говеда”

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 25.06.2025.

____

1. Ауторство - Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.