

GENETIC MARKERS AS ONE OF TOOLS FOR PRODUCTION OF TENDERNESS MEAT IN CATTLE*Michal Gábor, Anna Trakovická, Martina Miluchová, Nina Moravčíková***ABSTRACT**

Meat tenderness is one of the major characteristic quality of beef not only for consumers but for breeders of beef cattle too. Selection of cattle focussed on an increment of meat tenderness is complicated because this trait has large variability not only between different breeds but between individuals of equal breed too. Similarly a measurement of meat tenderness is expensive because it make after slaughter of animal and ageing of meat post mortem. Therefore it was developed a several methods, by the help of which is possible increase tenderness of meat. However still exist variance in values of meat tenderness which are caused by distinctness genetic base of animal. By using molecular genetic methods was described the most significant candidate genes (CAPN1, CAST) coding formation of the calpains-calpastatin proteolytic system, which exercise an influence on tenderness. The single nucleotide polymorphisms (SNPs) in these genes were using to design commercially genetic marker panels GeneSTAR Tenderness and Igenity Tender-GENE. By help this commercially test is possible to make genotyping and selection of animals for production of tenderness beef meat in meat industry.

Keywords: cattle, meat, tenderness, SNPs, CAPN1, CAST

ÚVOD

Cieleným šľachtením hovädzieho dobytku sa dosiahol výrazný nárast v produkcii mlieka pri mliečnych plemenách alebo sa výrazne zvýšila intenzita rastu mäsových plemien, to znamená, že pri selekcii sa doteraz uprednostňoval zámer šľachtenia na kvantitu živočíšnych produktov (mlieko, mäso). Selektívny zámer na zvýšenie kvality jednotlivých produktov hovädzieho dobytku, predovšetkým kvality mäsa, bol podstatne slabší. V poslednej dobe sa však ciele selekcie pri mäsových plemenách hovädzieho dobytku čoraz výraznejšie zameriavajú v prospech zvýšenia kvalitatívnych znakov, ktoré výrazne posilňujú záujem konzumentov o kúpu hovädzieho mäsa.

Pri hodnotení kvality mäsa rozoznávame dva dôležité faktory, ktoré výrazne ovplyvňujú kvalitu mäsa. Prvým faktorom je vplyv prostredia zahrňujúci rôzne systémy chovu, vek pri zabití, zaobchádzanie so zvieratami pred zabitím (eliminácia stresových faktorov) ako aj podmienky pri zretí mäsa v *post mortem*.

Druhým dôležitým faktorom je vplyv genetického založenia jednotlivých mäsových plemien. Dôležitosť genetických faktorov môže byť demonštrovaná porovnaním rôznych plemien a rozličných genotypov v rámci rovnakých plemien, či preskúmaním major génov alebo štúdiom polygenetickej dedičnosti pri mäsových plemenách. Rozdielne plemená alebo rozdielne genotypy v jednej populácii plemena sú príčinou odlišne fyziológie vo svaloch. V dôsledku toho môže byť teda rozdielna kvalita mäsa závislá od genotypu zvieratá.

Jemnosť hovädzieho mäsa „tenderness“

Na základe rozsiahleho výskumu spotrebiteľov sa zistilo, že väčšina z nich pri zmyslovom posudzovaní hovädzieho mäsa prikladá väčšiu pozornosť práve jemnosti mäsa (Miller et al., 1995). Je dokázané, že konzumenti môžu cítiť rozdiely medzi tuhým a jemným mäsom klasifikovaným podľa Warner-Bratzlerového testu strižnej sily (Hauffman et al., 1996) a sú ochotní zaplatiť viac za jemnejšie mäso (Boleman et al., 1997). Odlišnosť

v jemnosti mäsa vnímaný konzumentmi závisí hlavne od procesu uskutočneného počas fázy krehnutia (Veiseth a Koohmaraie, 2005).

Samotný proces zrenia mäsa *post mortem* môžeme rozdeliť do troch fáz, počas ktorých dochádza k premene svalů na mäso. Prvá fáza sa nazýva tzv. *pre-rigor* fáza alebo fáza pred tuhnutím jatočného tela, trvá v rozpätí od 15 do 30 minút po porážke zvieratá, počas ktorej sval zostáva excitabilný a môže reagovať na podnety nervovej sústavy (Chrystall a Devine, 1985). Druhá fáza sa nazýva fáza tuhnutia alebo aj fáza *rigor mortis*, počas ktorej dochádza k vyčerpaniu energeticky bohatých zložiek ako sú napr. ATP alebo glykogén. Doba vyčerpania týchto komponentov je rôzna a závisí od typu svalů, druhu zvieratá a podmienok zmrazenia. V priebehu tejto fázy dochádza ku skracovaniu dĺžky sarkoméry čím sa znižuje elasticita svalů spôsobujúca zvýšenú tuhosť mäsa. Porovnaním zvierat jedného plemena s rovnakým vekom boli zistené rozdielne hodnoty jemnosti mäsa, príčinou ktorých mohla byť úroveň kontrakcie sarkomer pri nástupe *rigor mortis* (Sentandreu et al., 2002). Tretiu fázu zrenia mäsa predstavuje tzv. fáza krehnutia, kedy vplyvom endogénnych proteáz dochádza k degradácii svalových proteínů nachádzajúcich sa v svalových myofibrilách. Koohmaraie (1992) charakterizuje tretiu fázu zrenia mäsa začiatkom proteolýzy svalových myofibril, denaturáciou kolagénu, deštrukciou spojiv a diasociáciou aktín-myozínového komplexu a asociáciou proteínů. Samotný proces krehnutia mäsa je závislý na čase a približne po 72 hodinách je hlavná časť procesu krehnutia mäsa kompletná.

Faktory ovplyvňujúce jemnosť mäsa

Odchýlky v jemnosti mäsa vznikajú v dôsledku genetickej variácie, biologických a fyziologických rozdielů, biofyzikálnych zmien počas porážky a chemických rozdielů vytvorených počas zretia *post mortem* (Koohmaraie, 1996). Početné výskumy dokázali, že preukazné zlepšenie jemnosti mäsa môže byť

dosiahnuté kontrolovaním fyziologických procesov pôsobiacich na krehkosť a procesov, ktoré sú ovplyvnené vonkajšími faktormi.

Zloženie svalového vlákna

Samotné zloženie svalových vlákien vo svaloch je závislé od funkcie konkrétnej svalovej partie a výrazne vplýva na stupeň jemnosti mäsa. Funkcia svalu u žijúceho zvieratá hrá dôležitú úlohu pre stanovenie rozdielneho stupňa jemnosti. Ako príklad môžeme uviesť prednú nohu a celú päť, ktoré sú používané prevažne na pohyb a preto obsahujú viac spojivového tkaniva, ktoré je tuhšie. Protikladom takéhoto mäsa je sviečková, ktorá sa považuje za najjemnejšie mäso hovädzieho dobytku. Latinský názov tohto svalu je *musculus psoas major* a jeho hlavnou funkciou je stabilizovať chrbát pri určitých pohyboch (Leveau, 2008). Svaly obsahujú tri proteínové frakcie a to myofibrilárne proteíny rozpustné v roztoku solí, proteíny spojivového tkaniva, ktoré sú rozpustné v kyseline a nakoniec sarkoplazmatické proteíny rozpustné vo vode (Koochmaraie et al., 2002). Najpočetnejšiu časť svalov tvoria štruktúrne myofibrilárne proteíny, ktorých degradácia tvorí základný proces zretia mäsa.

Endogénne peptidázy

Zlepšenie stupňa krehkosti mäsa v podmienkach *post mortem* je vo všeobecnosti závislé od zjemnenia myofibrilárnej štruktúry svalu prostredníctvom endogénnych proteolytických enzýmov. Kostrové svalstvo tvorené svalovými myofibrilami obsahuje rôzne skupiny proteínov, ktorých degradácia je spojená s premenou svalu na mäso. Skupinu týchto proteínov tvoria aktín, myozín, troponín, tropomyozín, C-proteín, M-proteín a cytoskeletálne proteíny titín, nebulín, dezmin, dystrofin a vinculin (Huff-Lonergan, 1999; Hopkins a Thomson, 2001). Jednotlivé skupiny proteínov sú degradované špecifickými proteolytickými endonukleázami. Proteolýza niektorých proteínov nastáva už niekoľko minút po porážke a stupeň rozrušenia týchto proteínov (titín a nebulín) vplýva na finálnu krehkosť mäsa závislú od degradácie ďalších proteínov akými sú aktín a myozín. Pri degradácii jednotlivých proteínov hrá dôležitú úlohu spojivové tkanivo vo svaloch tvoreného vrstvou endomyzia, perimyzia a epimyzia. Spojivové tkanivá udržiavajú integritu kontraktibilného aparátu a počas degradácie svalových myofibril odolávajú účinku proteáz (Hopkins, 2004).

Sentandreu et al. (2002) popísali vo svojej štúdiu jednotlivé rodiny peptidáz prítomných v kostrovom svalstve. Ouali (1992) zistil, že aktivitu jednotlivých skupín enzýmov pozitívne alebo negatívne ovplyvňujú fyzikálno-chemické podmienky (pH, osmotický tlak) vznikajúce vplyvom premeny svalu na mäso. Skupinu endogénnych peptidáz lokalizovaných v kostrovom svalstve tvoria kalpaíny, katepsíny, proteazómy, matrixové metalopeptidázy a serínové peptidázy.

Najviac preštudovanú skupinu endogénnych proteáz tvoria kalpaíny spolu s ich endogénnym inhibítorom kalpastatínom. Endogénny kalpaín-kalpastatínový komplex zohráva hlavnú úlohu pri proteolýze svalových proteínov počas zrenia v *post mortem*. Kalpaíny predstavujú všadeprítomné cytoplazmatické cysteínové proteázy, ktorých aktivita je viazaná na prítomnosť vápnika (Sorimachi et al., 1997). Plnia kľúčovú úlohu pri

zretí mäsa *post mortem* (Koochmaraie et al., 1996), kedy proteolyticky degradujú myofibrily svalových vlákien. Sú tvorené dvoma podjednotkami s molekulárnymi hmotnosťami 30 kDa a 80 kDa. Ich účinok inhibuje enzým kalpastatín, ktorý spolu s kalpaínmi tvorí nezastupiteľný primárny proteolytický enzýmový systém potrebný pri zretí mäsa (Koochmaraie et al., 1991).

Na základe koncentrácie vápnika špecifickej pre jednotlivé typy kalpaínov boli najviac preskúmané μ -kalpaín (kalpaín 1) a m-kalpaín (kalpaín 2). Pre spustenie aktivity μ -kalpaínu postačuje koncentrácia Ca^{2+} približne 50–100 μM , zatiaľ čo pre navodenie aktivity pri m-kalpaíne je potrebná koncentrácia Ca^{2+} približne 1–2 mM (Suzuki a Sorimachi 1998; Goll et al., 2003). Tretí typ kalpaínu dostal pomenovanie kalpaín 3, ale podľa Veisetha a Koochmaraieho (2005) a Geesinka et al. (2005) nie je zahrnutý do procesu krehnutia mäsa.

Skúmaním aktivity kalpaínov počas procesu krehnutia mäsa sa zistila závislosť kalpaínov od prítomnosti vápenatých iónov potrebných k ich aktivácii. Testy prídavku chloridu vápenatého do jatočného tela skúmané vo viacerých štúdiách poskytli preukazný efekt na strižnú silu, pričom došlo k 32 % nárastu jemnosti mäsa v porovnaní s kontrolnými vzorkami bez prídavku chloridu vápenatého (Wheeler et al., 1991; Boleman et al., 1995; Lawrence et al., 2003). Na podporenie predchádzajúcich štúdií boli vykonané testy s prídavkom chloridu zinočnatého podaného injekčne pôsobiaceho ako inhibítor aktivity vápnika. Výsledky vzoriek hovädzej svaloviny, ktorým bola podaná injekcia chloridu zinočnatého zaznamenali drasticky vysoké hodnoty strižnej sily (Lawrence et al., 2003).

Inhibítorom aktivity kalpaínov je kalpastatín lokalizovaný taktiež vo svaloch. Kalpastatín má dôležitú úlohu pri regulácii exprese kalpaínov. Jedna molekula kalpastatínu môže inhibovať až štyri molekuly kalpaínu (Goll et al., 2003). Navyše množstvo vápnika potrebného na aktiváciu kalpastatínu je nižšie ako pri aktivácii oboch kalpaínov (Hopkins a Thomson, 2001). Úroveň inhibičnej aktivity kalpastatínu sa znižuje počas zrenia mäsa *post mortem*.

Vek

Jemnosť mäsa klesá s pribúdajúcim vekom živého zvieratá, preto je mäso mladých zvierat jemnejšie (Reagan et al., 1976). Hlavným dôvodom poklesu jemnosti mäsa súvisiaceho so stúpajúcim vekom je zvýšenie kolagénových priečných väzieb vo svaloch alebo redukcia množstva rozpustného kolagénu (Lepetit, 2007).

Plemeno

Rozdielne plemená alebo rozdielne genotypy v rámci jedného plemena sú príčinou rozdielnej fyziológie vo svaloch. V dôsledku toho môže byť teda rozdielna kvalita mäsa závislá od genotypu zvieratá. Napríklad mäso dobytku, ktorého predok bol *Bos indicus* má nižšiu jemnosť ako plemeno, ktorého predkom bol *Bos taurus*. Nižšia jemnosť mäsa pri *Bos indicus* je zapríčinená redukciou proteolýzy myofibrilárnych proteínov vo svaloch v spojitosti s vyššou aktivitou kalpastatínu, ktorý pôsobí ako inhibítor kalpaínov zodpovedných za proteolýzu mäsa (Whipple et al., 1990). Neskôr dospievajúce mäsové plemená ako belgické modré,

limousin, blonde d'aquitaine sú charakteristické nižším obsahom kolagénových vlákien, kompresie a strižnej sily surového a vareného mäsa, vyšším obsahom svalovej hmoty a nižším obsahom tuku v porovnaní s mliečnymi typmi plemien alebo s rannými mäsovými plemenami angus a japonský čierny dobytok.

Metódy merania jemnosti mäsa

Jemnosť mäsa je najjednoduchšie merateľný faktor celkovej chutnosti hovädzieho mäsa. Stupeň jemnosti je meraný dvoma základnými metódami - Warner-Bratzlerová strižná sila a metóda senzorickej analýzy. Warner-Bratzlerová strižná sila (WBSF) predstavuje objektívnu metódu vyvinutú začiatkom tridsiatych rokov 20. storočia, pri ktorej sa zisťuje maximum sily potrebnej na prerezanie svalových vlákien vyjadrenej v librách alebo kilogramoch (Warris, 2004). Senzorická analýza môže byť vykonaná použitím panelov akými sú napríklad spotrebiteľský panel (Montgomery et al., 2002).

Metódy zvyšujúce stupeň jemnosti mäsa

Na základe sledovania jednotlivých fyzikálnych, chemických a enzymatických procesov prebiehajúcich počas všetkých troch fáz zretia mäsa boli optimalizované metódy a postupy pozitívne zvyšujúce stupeň krehkosti mäsa. Podstata väčšiny z týchto metód spočíva v uvoľnení určitého množstva Ca^{2+} zo svaly, ktorý následne zvýši aktivitu kalpaínov nakoľko samotný proces zretia mäsa je z veľkej časti závislý na aktivite endogénnych peptidáz.

Medzi najviac preštudované metódy patria:

- *elektrická stimulácia jatočného tela* (Nour et al., 1994, Hwang a Thomson, 2001, Hwang et al., 2003, Lawries a Ledward, 2006),
- *zmrazenie jatočného tela* (Sorheim et al., 2000; Hopkins, 2004)
- *metóda využitia hydrodynamického tlaku* (Solomon et al., 1997),
- *metóda využitia ultrazvukových vln* (Hwang a Thomson, 2002).

Genetické markery krehkosti mäsa

Napriek snahám mäsového priemyslu optimalizovať jemnosť mäsa, stále existuje veľké množstvo variácií medzi jednotlivcami, ktoré môžu byť vysvetlené najmä pôsobením dedičných faktorov. Navyše meranie jednotlivých parametrov kvality mäsa všeobecne dôležitých pre záujem konzumentov je veľmi nákladné. Práve z tohoto dôvodu sa v poslednej dobe začínajú využívať testy založené na genotypovaní zvierat na prítomnosť jednotlivých mutácií, pri ktorých bola preukazná asociácia medzi ich prítomnosťou a zlepšenou kvalitou hovädzieho mäsa.

Medzi najznámejšie kandidátske gény asociované s jemnosťou mäsa zvierat patria gény CAPN1 kódujúci proteázu μ -kalpaín (EC 3.4.22.52) a CAST kódujúci vznik kalpastatínu.

Gén CAPN1

Geesink et al. (2006) vo svojej práci potvrdili esenciálnu úlohu μ -kalpaínu pre enzymatickú aktivitu *post mortem*. Goll et al. (2003) zistili, že v živých svaloch je pôsobenie kalpaínov blokované naviazaním na kalpastatín. Kalpaíny sa stávajú aktívne až v štádiu *post mortem* pričom

pravdepodobným dôvodom na spustenie aktivity kalpaínov je vyčerpanie energie ATP, ktorej pokles spôsobený nástupom *rigor mortis* vyvolá zastavenie reabsorpcie vápnikových iónov v sarkoplazmatickom retikule. Namiesto toho je vápnik uvoľnený do sarkoplazmy, kde dochádza k inhibícii naviazania kalpastatínu na kalpaín. Vyčerpaním ATP a zvýšením úrovne vápnika nad hranicu, pri ktorej je kalpastatín schopný blokovať kalpaín, dochádza k nárastu proteolytickej aktivity kalpaínov (Warris, 2004).

K identifikácii génov kódujúcich enzýmy kalpaín-kalpastatín proteolytického systému bolo použité veľké množstvo kríženého dobytku. Smith et al. (2000) podrobným mapovaním lokalizoval gén CAPN1 (μ -kalpaín) na 29. chromozóme. Doteraz bolo u bovinného CAPN1 génu popísaných 38 SNP (Page et al. 2002; 2004; White et al., 2005; Kubiak-Juszczuk et al., 2004), avšak väčšina z nich bola lokalizovaná v intrónových oblastiach génu CAPN1 s výnimkou dvoch SNP lokalizovaných v 9. exóne kde dochádza k zámene C/G výsledkom čoho bola zmena sekvencie aminokyselín Gly³¹⁶/Ala³¹⁶ a v 14. exóne, kde došlo k substitúcii A/G s následnou zmenou sekvencie aminokyselín Val⁵³⁰/Ile⁵³⁰. Ďalšie analýzy krížencov hovädzieho dobytku potvrdili asociácie vyššej strižnej sily a prítomnosti glycínu a izoleucínu v sekvencii aminokyselín enzýmu μ -kalpaín v prospech genotypov kódujúcich alanínovú a valínovú variantu v sekvencii aminokyselín enzýmu μ -kalpaín (Page et al., 2002). Preferovaná alela C markeru CAPN316 bola dokázaná pri väčšine mäsových plemien, ale len s nízkou až strednou frekvenciou výskytu (Page et al., 2004). Prednedávnom bola objavená nová genetická variácia CAPN1 génu, pri ktorej bola popísaná asociácia medzi hodnotami strižnej sily a zretím mäsa *post mortem* v dobe od 7 do 21 dní. Nový polymorfizmus génu CAPN1 označovaný ako CAPN4751 spočíva v substitúcii C/T. Alela T bola spojená s vyššími hodnotami strižnej sily a s vyššou frekvenciou výskytu pri plemenách s pôvodom *Bos indicus*. Preto bol spomínaný marker CAPN4751 otestovaný aj pri plemenách s pôvodom *Bos taurus*, pričom bola zistená zvýšená frekvencia alely C, ktorá bola asociovaná s nižšími hodnotami strižnej sily (White et al., 2005).

Gén CAST

Dôležitou súčasťou kalpaínového systému proteáz je ich endogénny inhibitor kalpastatín nájdený vo všetkých tkanivách obsahujúcich kalpaíny. Kalpastatín získaný z kostrového svalstva je jednoduchý polypeptid tvorený štyrmi opakujúcimi sa doménami 1, 2, 3 a 4 a N – terminálnou oblasťou označovanou ako doména L alebo XL (Maki et al., 1991), ktorá sa vyznačuje variabilnou veľkosťou (Goll et al., 1999). Otsuka a Goll (1987) zistili, že neporušená kalpastatínová molekula je schopná inhibovať najmenej štyri molekuly kalpaínu, práve vplyvom inhibičných aktivít domén 1 – 4. Z toho vyplýva, že kalpastatín plní dôležitú úlohu pri expresii kalpaínovej proteolytickej aktivity. Zaujímavosťou je, že kalpastatín k svojej aktivácii vyžaduje vápnik naviazaný na kalpaínoch. Množstvo vápnika potrebného k naviazaniu kalpastatínu na kalpaín je omnoho nižšie ako množstvo vápnika potrebného pre polovičnú aktivitu alebo polovičnú autolýzu m-kalpaínu a μ -kalpaínu (Kapprell et

al., 1989). Otsuka a Goll (1987) zistili, že naviazanie kalpastatínu je reverzibilný proces a vplyvom vápnikových chelatónov (napr. EDTA) môže nastať diasociácia kalpastatínu od kalpaínu. Lonergan et al. (2001) zistili, že vo svaloch v *post mortem* je kalpastatín degradovaný. Rýchlosť degradácie a inaktivácie kalpastatínu je spojená s rýchlosťou proteolýzy a krehnutia pozorovaného v mäse (Geesink a Koohmaraie, 1999; Lonergan et al., 2001) čo predstavuje dobrý dôkaz o čiastočnom vplyve kalpaínu na degradáciu kalpastatínu. Presné faktory alebo podmienky, ktoré regulujú degradáciu kalpastatínu kalpaínom však nie sú známe (Montgomery et al., 2002).

Gén pre kalpastatín označovaný ako CAST môžeme na základe výsledkov početných štúdií vykonaných najmä na hovädzom dobytku považovať za kandidátsky gén pre jemnosť mäsa. Gén kódujúci vznik hovädzieho kalpastatínu je lokalizovaný na 7. chromozóme s relatívnou pozíciou 117,8 cM (Bishop et al., 1993; Kappes et al., 1997).

Barendse (2002) objavil v 3'UTR oblasti jeden z dvoch doposiaľ najdôležitejších polymorfizmov CAST génu. Podstatou jednonukleotidového polymorfizmu (SNP) je zámena G za A. Početné štúdie potvrdzujúce silnú

asociáciu tohto SNP s jemnosťou hovädzieho mäsa umožnili využitie spomínanej mutácie génu CAST v komerčnom teste GeneSTAR Tenderness, ktorý spolu s vybranými SNP μ -kalpaínu CAPN316 a CAPN4751 tvoria jeden zo základných panelov pre predikciu jemnosti mäsa hovädzieho dobytku.

Druhé najvýznamnejšie SNP lokalizované v 5. intróne génu CAST popísal Schenkel et al. (2006). Nové SNP spočívajúce v zámene G za C bolo asociované so znížením hodnoty Warner-Bratzlerovej strižnej sily pri hovädzom mäse. SNP dostalo pomenovanie UoG-CAST je súčasťou druhého komerčného testu s označením Igenity TenderGENE. Súčasťou spomínaného komerčného testu na odhadnutie jemnosti mäsa na základe genetickej predispozície sú podobne ako v predchádzajúcom teste GeneSTAR Tenderness markery CAPN316 a CAPN4751 génu CAPN1 kódujúceho vznik μ -kalpaínu.

Štúdia Van-Eennaama et al. (2007) potvrdila platnosť oboch komerčných testov GeneSTAR Tenderness a Igenity TenderGENE pri genotypovaní zvierat hovädzieho dobytku a tým potvrdila silnú asociáciu polymorfizmov génov CAST a CAPN1 s jemnosťou mäsa (tabuľka 1).

Genotypy			GeneSTAR Tenderness				Igenity TenderGene			
GeneSTAR T1 alebo Igenity UoG-CAST	T2 = CAPN316	T3 = CAPN4751	Odhad kg	SE	No.	%	Odhad kg	SE	No.	%
2 alebo CC	2 = CC	2 = CC	- 1,0	0,2	11	0,8	- 1,0	0,2	18	1,5
		1 = CT	- 0,8	0,2	9	0,7	- 0,5	0,3	8	0,7
		0 = TT	- 0,6	0,4	0	0,0	0,1	0,5	0	0,0
1 alebo CG	1 = CG	2 = CC	- 0,8	0,2	71	5,5	- 0,9	0,1	60	5,0
		1 = CT	- 0,6	0,1	80	6,1	- 0,7	0,1	123	10,2
		0 = TT	- 0,5	0,2	13	1,0	- 0,2	0,2	9	0,7
0 alebo GG	0 = GG	2 = CC	- 0,7	0,2	54	4,2	- 0,7	0,2	33	2,7
		1 = CT	- 0,5	0,1	143	11,0	- 0,6	0,1	181	15,0
		0 = TT	- 0,3	0,1	321	24,7	- 0,4	0,1	212	17,5
1 alebo CG	2 = CC	2 = CC	- 0,8	0,2	5	0,4	- 0,8	0,1	9	0,7
		1 = CT	- 0,7	0,2	3	0,2	- 0,3	0,2	1	0,1
		0 = TT	- 0,5	0,4	0	0,0	0,2	0,5	0	0,0
0 alebo GG	1 = CG	2 = CC	- 0,7	0,1	38	2,9	- 0,7	0,1	42	3,5
		1 = CT	- 0,5	0,1	25	1,9	- 0,5	0,1	74	6,1
		0 = TT	- 0,3	0,2	7	0,5	0,0	0,2	4	0,3
0 alebo GG	0 = GG	2 = CC	- 0,5	0,1	62	4,8	- 0,6	0,1	23	1,9
		1 = CT	- 0,3	0,1	53	4,1	- 0,4	0,1	91	7,5
		0 = TT	- 0,2	0,0	285	21,9	- 0,2	0,1	204	16,9
0 alebo GG	2 = CC	2 = CC	- 0,7	0,2	0	0,0	- 0,7	0,1	2	0,2
		1 = CT	- 0,5	0,2	1	0,1	- 0,1	0,2	1	0,1
		0 = TT	- 0,3	0,3	0	0,0	0,4	0,5	0	0,0
0 alebo GG	1 = CG	2 = CC	- 0,5	0,1	9	0,7	- 0,5	0,1	7	0,6
		1 = CT	- 0,3	0,1	7	0,5	- 0,3	0,1	9	0,7
		0 = TT	- 0,2	0,2	6	0,5	0,2	0,2	0	0,0
0 alebo GG	0 = GG	2 = CC	- 0,4	0,1	17	1,3	- 0,4	0,1	5	0,4
		1 = CT	- 0,2	0,1	15	1,2	- 0,2	0,1	30	2,5
		0 = TT	0,0	0,0	67	5,2	0,0	0,0	63	5,2

ZÁVER

Cieľom tohoto príspevku bolo poskytnúť rozsiahly prehľad negetických a genetických faktorov vplyvujúcich na proces zretia mäsa *post mortem* ako aj možnosti využitia technologických postupov pre produkciu jemnejšieho hovädzieho mäsa. Hlavným zámerom bolo poukázať na vplyv genetických markerov génov CAPN1 a CAST, ktorých

komerčné využitie sa už realizuje vo vyspelých krajinách s vysokou produkciou hovädzieho mäsa ako Austrália, Kanada a USA.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. LPP-0220-09.

LITERATÚRA

- BARENDSE, W. G. 2002. DNA markers for meat tenderness. International patent application No. PCT/AU02/00122. World Intellectual Property Org. Int. Publication No. WO 02/064820 A1.
- BISHOP, M. D., KAPPES, S. D., KEELE, J. W., STONE, R. T., SUNDEN, S. L. F., HAWKINS, G. A., SOLINAS TOLDO S., FRIES, R., GROSZ, M. D., YOO, J., BEATTIE, C. W. 1994. A genetic linkage map for cattle. In: *Genetics*, vol. 136, 1994, p. 619-639.
- BOLEMAN, S. J., BOLEMAN, S.L., BIDNER, T.D., MCMILLIN, K.W., MONLEZUN, C.J. 1995. Effects of post-mortem time of calcium chloride injection on beef tenderness and drip, cooking and total loss. In *Meat Science*, vol. 39, 1995, p. 35-41.
- BOLEMAN, S. J., BOLEMAN, S. L., MILLER, R. K., TAYLOR, J. F., CROSS, H. R., WHEELER, T. L., KOOHMARAIE, M., SHACKLEFORD, S. D., MILLER, M. F., WEST, R. L., JOHNSON, D. D., SAVELL, J. W., 1997. Consumer Evaluation of Beef of Known Categories of Tenderness. In *J. Anim. Sci.*, vol. 75, 1997, 1521-1524.
- GEESINK G. H., KOOHMARAIE, M. 1999. Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by μ -calpain under postmortem conditions. In *J. Animal Sci.*, vol. 77, 1999, p. 2685-2692.
- GEESINK, G. H., TAYLOR, R. G., KOOHMARAIE, M. 2005. Calpain 3/p94 is not involved in postmortem proteolysis. In *J. Anim. Sci.*, vol. 83, 2005, p. 1646-1652.
- GEESINK, G. H., KUCHAY, S., CHISHTI, A. H., KOOHMARAIE, M. 2006. μ -calpain is essential for post-mortem proteolysis of muscle proteins. In *J. Anim. Sci.*, vol. 84, 2006, p. 2834-2840.
- GOLL, D. E., THOMPSON, V. F., LI, H., WEI, W., CONG, J. 2003. The calpain system. In *Physiological Reviews*, vol. 83, 2003, p. 731-801.
- BARENDSE, W. G. 2002. DNA markers for meat tenderness. International patent application No. PCT/AU02/00122. World Intellectual Property Org. Int. Publication No. WO 02/064820 A1.
- BISHOP, M. D., KAPPES, S. D., KEELE, J. W., STONE, R. T., SUNDEN, S. L. F., HAWKINS, G. A., SOLINAS TOLDO S., FRIES, R., GROSZ, M. D., YOO, J., BEATTIE, C. W. 1994. A genetic linkage map for cattle. In: *Genetics*, vol. 136, 1994, p. 619-639.
- BOLEMAN, S. J., BOLEMAN, S. L., BIDNER, T. D., MCMILLIN, K. W., MONLEZUN, C. J. 1995. Effects of post-mortem time of calcium chloride injection on beef tenderness and drip, cooking and total loss. In *Meat Science*, vol. 39, 1995, p. 35-41.
- BOLEMAN, S. J., BOLEMAN, S. L., MILLER, R. K., TAYLOR, J. F., CROSS, H. R., WHEELER, T. L., KOOHMARAIE, M., SHACKLEFORD, S. D., MILLER, M. F., WEST, R. L., JOHNSON, D. D., SAVELL, J. W., 1997. Consumer Evaluation of Beef of Known Categories of Tenderness. In *J. Anim. Sci.*, vol. 75, 1997, 1521-1524.
- GEESINK G. H., KOOHMARAIE, M. 1999. Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by μ -calpain under postmortem conditions. In *J. Animal Sci.*, vol. 77, 1999, p. 2685-2692.
- GEESINK, G. H., TAYLOR, R. G., KOOHMARAIE, M. 2005. Calpain 3/p94 is not involved in postmortem proteolysis. In *J. Anim. Sci.*, vol. 83, 2005, p. 1646-1652.
- GEESINK, G. H., KUCHAY, S., CHISHTI, A. H., KOOHMARAIE, M. 2006. μ -calpain is essential for post-mortem proteolysis of muscle proteins. In *J. Anim. Sci.*, vol. 84, 2006, p. 2834-2840.
- GOLL, D. E., THOMPSON, V. F., LI, H., WEI, W., CONG, J., 2003. The calpain system. In *Physiological Reviews*, vol. 83, 2003, p. 731-801.
- HAUFFMAN, K. L., MILLER, M. F., HOOVER, L. C., WU, C.K., BRITTIN, H. C., RAMSEY, C. B. 1996. Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks consumed in the home and restaurant. In *J. Anim. Sci.*, vol. 74, 1996, p. 91-97.
- HOPKINS, D. L. 2004. Tenderizing mechanisms. In JENSEN, W. K., DEVINE, C., DIKEMAN, M.: *Encyclopedia of Meat Sciences*, 3rd ed. Academic Press, 2004, 1500 p. ISBN 978-0-12-464970-5.
- HOPKINS, D. L., THOMPSON, J. M. 2001. The relationship between tenderness, proteolysis, muscle contraction and dissociation of actomyosin. In *Meat Science* vol. 57, 2001, p. 1-12.
- HUFF-LONERGAN, E., LONERGAN, S. M. 1999. Postmortem mechanisms of meat tenderization: The roles of the structural proteins and the calpain system. In: XIONG, L. Y., HO, C. T., SHAHIDI, F. (eds.) *Quality attributes of muscle foods*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999, p.229-251.
- HWANG, I. H., THOMPSON, J. M. 2001. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. In *Meat Science*, vol. 58, 2001, p. 135-144.
- HWANG, I. H., THOMPSON, J. M. 2002. A technique to quantify the extent of postmortem degradation of meat ultrastructure. In *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, vol. 15, 2002, p. 111-116.
- HWANG, I. H., DEVINE, C. E., HOPKINS, D. L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness – a review. In *Meat Science*, vol. 65, 2003, p. 677-691.
- CHRYSTALL, B. B., DEVINE, C. E. 1985. Electrical stimulation: its early development in New Zealand. In *Advances in Meat Research*, vol. 1, 1985, p. 73-119.
- KAPPELL, H. P., GOLL, D. E. 1989. Effect of Ca²⁺ on binding of the calpains to calpastatin. In *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 264, 1989, no. 30, p. 17888-17896.
- KOOHMARAIE, M., WHIPPLE, G., KRETCHMAR, D. H., CROUSE, J. D., MERSMAN, H. J. 1991. Postmortem proteolysis in *longissimus muscle* from beef, lamb and pork carcasses. In *J. Anim. Sci.*, vol. 69, p. 617-624.
- KOOHMARAIE, M. 1992. The role of Ca²⁺-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. In *Biochimie*. vol. 74, 1999, p.239-245.
- KOOHMARAIE, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. In *Meat Science*, vol. 43, p. 193-201.
- KOOHMARAIE, M., KENT, M. P., SHACKLEFORD, S. D., VEISETH, E., WHEELER, T. L. 2002. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? In *Meat Science*, vol. 62, 2002, p. 345-352.
- KUBIAK-JUSZCZUK, E., SAKOWSKI, T., FLISIKOWSKI, K. 2004. Bovine μ -calpain (CAPN1) gene: new SNP within intron 14. In *J. Appl. Genet.* vol. 45(4), 2004, p. 457-460.
- LAWRENCE, T. E., DIKEMAN, M. E., STEPHENS, J. W., OBUZ, E., DAVIS, J. R. 2003. In situ investigation of the calcium-induced proteolytic and salting-in mechanisms causing tenderization in calcium-enhanced muscle. In *Meat Science*. vol. 6, 2003, p. 69-75.
- LAWRIES, R. A., LEDWARD, D. A. 2006. The storage and preservation of meat: I temperature control. 194-203. (In:) Lawrie's meat science. 1966. Woodhead Publishing Limited. Cambridge. England. ISBN (13) 1-84569-159-2.
- LEPETIT, J. 2007. A theoretical approach of the relationship between collagen content, cross-links and meat tenderness. In *Meat Science*, vol. 76, 2007, p. 147-159.

- LEVEAU, C. 2008. *Candidate genes for beef quality –allele frequencies in Swedish beef cattle*. Examarbeit, Swedish University of Agricultural Sciences, dostupné na internete: http://exepsilon.slu.se/archive/00002686/01/301_Carina_Leveau.pdf
- LONERGAN, S. M., HUFF-LONERGAN, E., WIEGAND, R. B. 2001. Postmortem proteolysis and tenderization of top loin steaks from brangus cattle. In *Journal of Muscle Foods*, vol. 12, 2001, p. 121-136.
- MAKI, M., MA, H., TAKANO, E. ADACHI, Y., LEE, J. W., HATANAKA, M., MURACHI, T., 1991. Calpastatins: biochemical and molecular biological studies. In *Biomedica Biochimica Acta*, vol. 50, 1991, p. 509-516.
- MILLER, M. F., HUFFMAN, K. L., GILBERT, S. Y., HAMMAN, L. L., RAMSEY, C.B. 1995. Retail consumer acceptance of beef tenderized with calcium chloride. In *J. Anim. Sci.*, vol. 73, 1995, p. 2308-2314.
- MONTGOMERY, J. L., CARR, S. M., KERTH, R. C. HILTON, G. G., PRICE, P. B., GALYEAN, L. M., HORST, L. R., MILLER, M. F. 2002. Effect of vitamin D3 supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. In *J. Anim. Sci.*, vol. 80, 2002, p. 971-981.
- NOUR, A. Y. M., GOMIDE, L. A., MILLS, E. W. LEMENAGER, R. P., JUDGE, M. D. 1994. Influence of production and postmortem technologies on composition and palatability of USDA Select grade beef. In *J. Anim. Sci.*, vol. 72, 1994, p. 1224-1231.
- ONO, Y., SORIMACHI, H., SUZUKI, K. 1998. Structure and physiology of calpain, an enigmatic protease. In *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 245, 1998, p. 289-294.
- OTSUKA, Y., GOLL, E. D. 1987. Purification of the Ca²⁺-dependent proteinase inhibitor from bovine cardiac muscle and its interaction with the millimolar Ca²⁺ dependent proteinase. In *J. Biol. Chem.* vol. 262, 1978, p. 5839-5851.
- OUALI, A. 1992. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. In *Biochimie*, vol. 74, 1992, p. 251-265.
- PAGE, B. T., CASAS, E., HEATON, M. P., CULLEN, N. G., HYNDMAN, D. L., MORRIS, C. A., CRAWFORD, A. M., WHEELER, T. L., KOOHMARAIE, M., KEELE, J. W., SMITH, T. P. L. 2002. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. In *J. Anim. Sci.*, vol. 80, 2002, p. 3077-3085.
- PAGE, B. T., CASAS, E., QUAAS, R. L., THALLMAN, R. M., WHEELER, T. L., SHACKLEFORD, S. D., KOOHMARAIE, M., WHITE, S. N., BENNETT, G. L., KEELE, J. W., DIKEMAN, M. E., SMITH, T. P. L. 2004. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. In *J. Anim. Sci.*, vol. 82, 2004, p. 3474-3481.
- REAGAN, J. O., CARPENTER, Z. L., SMITH, G. C. 1976. Age-related traits affecting the tenderness of the bovine longissimus muscle. In *J. Anim. Sci.*, vol. 43, 1976, p. 1198-1205.
- SENTANDREU, M. A., COULIS, G., OUALI, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. In *Trends in Food Science and Technology*, vol. 13, 2002, p. 400-421.
- 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. In *J. Anim. Sci.*, vol. 84, 2006, p. 291-299.
- SMITH, T. P. L.; CASAS, E.; REXROAD, C. E.; KAPPES, S. M.; KEELE, J. W. 2000. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. In *J. Anim. Sci.*, vol. 78, 2000, p. 2589-2594.
- SOLOMON, M. B., LONG, J. B., EASTRIDGE, J. S. 1997. The Hydrodyne: a new process to improve beef tenderness In *J. Anim. Sci.*, vol. 75, 1997, p. 1534-1537.
- SØRHEIM, O., IDLAND, J., HALVORSEN, E. C., FRØYSTEIN, T., LEA, P., HILDRUM, K. I. 2001. Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of *m. longissimus dorsi*. In *Meat Science*, vol. 57, 2001, p. 79-85.
- SORIMACHI, H., ISHIURA, S., SUZUKI, K. 1997. Structure and physiological function of calpains. In *Biochemical Journal*, vol. 328, 1997, p. 721-732.
- SUZUKI, K., SORIMACHI, H. 1998. A novel aspect of calpain activation. In *FEBS Lett* vol. 433, 1998, p. 1-4.
- VAN EENENNAAM, A. L., LI, J., THALLMAN, R. M. QUAAS, R. L., DIKEMAN, M. E., GILL, C. A., FRANKE, D. E., THOMAS, M. G. 2007. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. In *J. Anim. Sci.*, vol. 85 (4), 2007, p. 891-900.
- VEISETH, E., KOOHMARAIE, M. 2005. Beef tenderness: Significance of the calpain proteolytic system. In HOCQUETTE, J. F., GIGLI, S. *Indicators of milk and beef quality*. (Ed) EAAP publication. Wageningen, Wageningen Academic Publishers, 2005, p. 111-126.
- WARRIS, P. D. 2004. Meat science, an introductory text. CABI Publishing. Wallingford. ISBN 0-85199-424-5.
- WHEELER, T. L., KOOHMARAIE, M., CROUSE, J. D. 1991. Effects of calcium chloride injection and hot boning on the tenderness of round muscles. In *J. Anim. Sci.*, vol. 69, 1991, p. 4871-4875.
- WHIPPLE, G., KOOHMARAIE, M., DIKEMAN, M. E., CROUSE, J. D., HUNT, M. C., KLEMM, R. D. 1990. Evaluation of attributes that effect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. In *J. Anim. Sci.*, vol. 68, 1990, p. 2716-2728.
- WHITE, S. N., CASAS, E., WHEELER, T. L., SHACKLEFORD, S. D., KOOHMARAIE, M., RILEY, D. G., CHASE, C. C., JOHNSON, D. D., KEELE, J. W., 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. In *J. Anim. Sci.*, vol. 83, 2005, p. 2001-2008.

Contact address:

Ing. Michal Gábor, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Genetics and Breeding Biology, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: misogabor@yahoo.com

doc. Ing. Anna Trakovická, CSc., Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Genetics and Breeding Biology, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail: anna.trakovicka@uniag.sk

Ing. Martina Miluchová, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Genetics and Breeding Biology, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: martina.miluchova@centrum.sk

Ing. Nina Moravčíková, Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Genetics and Breeding Biology, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, E-mail :nina.moravcikova1@gmail.com