

VIRUSO POVEIKIS KIAULIENOS TECHNOLOGINIAMS RODIKLIAMS. VANDENS RIŠLUMO GEBA

A.Šalaševičienė^{1,2}, H.Stankevičius¹, M. Stankevičienė³, V. Liutkevičienė³

¹Lietuvos maisto institutas, Taikos pr. 92, LT–3031 Kaunas; tel. 8 37 31 23 93; el. paštas: imai@imai.lt

²Kauno kolegija, Pramonės pr. 20, LT–3041 Kaunas; tel. 8 37 35 23 12; el. paštas: rastine@kauko.lt

³Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT–3022 Kaunas; tel. 8 37 36 31 43; el. paštas: marija@lva.lt

Santrauka. Darbo tikslas – ištirti kiaulių reprodukcinių ir kvėpavimo sindromo viruso (KRKSv) poveikį kiaulienos morfologinei struktūrai ir žaliavos kokybiniais rodikliais, paaiškinti viruso įtaką jų pokyčiams pagal fizikinius, cheminius, morfologinius ir biocheminius tyrimų rezultatus.

Pagal kiaulių kraujo serologinius, kūno temperatūros skerdimo metu ir histologinius raumenų audinio tyrimus kiaulės buvo suskirstytos į kokybines grupes: kontrolė (serologiškai neigiamos), infekuota KRKSv ir mišrios infekcijos (infekuota KRKSv ir antrine bakterine infekcija). Mišrios infekcijos gyvulių grupės raumenų audinyje pastebėta: pakitę miocito branduolių struktūros, skersinės ir išilginės miofibrilių degeneracijos, membraninės struktūros, į virusus panašios dalelės bei ankstyvos autolizės reiškiniai – brinkstantys miocito branduoliai, irstančios sarkoplazminės membranos, miofibrilių dehidracija ir susidarę syvų „nuotėkų“ kanalai.

Raumenų ultrastruktūros pokyčiai mišrios infekcijos kiaulių grupėje apsprendė biocheminius ir technologinius duomenis po skerdimo – sparčiai mažėjančią pH terpę raumenų audinyje ir mažą jo vertę pirmąją valandą po skerdimo, didesnius raumenų syvų nuostolius ($p < 0,01$).

Pastebėti pokyčiai leidžia teigti, kad mišri infekcija (virusinė su antrine bakterine) turi įtakos technologiniams rodikliams, kurie būdingi PSE (blyškiai, porėtai, vandeningai) mėsai.

Raktažodžiai: kiaulių reprodukcinis ir kvėpavimo sindromas (KRKS), mėsa, kiaulienos technologiniai rodikliai, raumenų histocheminiai, biocheminiai ir fizikiniai tyrimai.

VIRUS INFLUENCE ON THE TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PORK WATER HOLDING CAPACITY

Summary. To investigate the interrelationship between the animal virus infection and the characteristics of pork, 35 pork loins were selected to present the quality groups: 1) infected (infected with PRRSv only), 2) co-infected (infected with PRRSv complicated with other bacterial species) and 3) control (non-infected) group. Under the influence of virus infection in co-infected animal group the following pathological: altered nucleus structures, lateral and longitudinal myofibrillar degenerations, an appearance of membranes structures and virus like particles, and an early ageing (a swell of nucleus, degenerations in sarcoplasmic membranes, myofibrils' dehydration and drip channels in the structure of the muscle) were observed.

The ultra structural changes predetermined the changes in the technological characteristics of the pork from co-infected animal group *post-mortem*: a rapid pH decline, significantly lower mean pH₁ and, as a consequence, the drip loss values were higher ($p < 0.01$).

Meat from animals infected with PRRSv and having co-infections was PSE-like (pale, soft exudative) because of all the observed changes.

Keywords: porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), meat, pork technological rate, muscular histochemical, biochemical and physical range.

Įvadas. Sėkmingai pramoninės kiaušiniųkystės plėtotė ir mėsos perdirbamosios pramonės darbui įtakos turi daugybė veiksnių. Sukaupiti tyrimų duomenys rodo, kad dalį kiaulienos kokybę apibūdinančių rodiklių apsprendžia genetika, kita dalis kiaulienos kokybės rodiklių priklauso nuo lyties, amžiaus, šėrimo, laikymo sąlygų ir apdorojimo technologijų (Henckel et al., 1997, Sonesson et al., 1998).

Lietuvos mėsos perdirbimo įmonės diegia modernias kokybės kontrolės ir valdymo sistemas, užtikrinančias saugių produktų gamybą. Tiekimo įmonėms saugią žaliavą gaminti sudėtinga. Jos kokybė priklauso nuo aplinkos veiksnių, darančių įtaką sanitariniams ir higieniniams mėsos kokybės rodikliams – patogeninei mikroflorai, nitratų, pesticidų, antibiotikų kiekiui. Deja, Lietuvoje nuo 1990 m. iki šiol kokybės rodikliai, priklausomi nuo pašarų kokybės, ligų, dar nepakankamai kontroliuojami. Per pastarąjį dešimtmetį paskelbtų tyrimų

duomenų analizė parodė, kad kokybiniai ir kiekybiniai mėsos tyrimai atlikti naudojant sveiką ar sąlyginai sveiką žaliavą. Duomenų apie laikymo sąlygas, susijusias su kiaulių sergamumu ir mėsos kokybe, nėra daug, ypač apie virusinį gyvulio susirgimą (Fiedler et al., 2001).

Kiaulių reprodukcinis ir kvėpavimo sindromas (KRKS) – virusinė infekcija. Liga pirmą kartą 1987 metais diagnozuota JAV, o 1990 m. jau užregistruota Europoje (Segales et al., 1999). Lietuvoje kiaulių, serologiškai teigiamai reaguojančių į KRKSv antigeną, aptikta 42,2% (Stankevičienė ir kt., 2002).

Infekcija, lydima viremijos, dažniausiai kvėpavimo keliu paplinta visame organizme. Pastaruoju metu šis patogeninis veiksnys, plačiai paplitęs kiaulių bandose, sukelia infekcijas be būdingų ligai klinikinių požymių. Tačiau ir šio pobūdžio infekcijos pasekmės žaliavos augintojai ir perdirbėjai sieja su produkcijos nuostoliais

tiesk ruošiant žaliavas, tiek jas technologiškai apdorojant (Thanawongnuwech et al., 2000).

Vis platesnio pripažinimo Lietuvos mėsos perdirbimo įmonėse susilaukia žaliavos kokybės rodiklių analizės programa. Pagal žaliavoje vykstančių autolizinių procesų pobūdį programuojami technologiniai režimai, siekiama geriausių gatavo produkto savybių (Gardner et al., 1999). Todėl išorinio veiksnio – virusinio susirgimo – ir gyvulinės žaliavos kokybinių rodiklių priklausomybė yra svarbi ir laiku svarstoma tema.

Susirgimo patogenezė ir išplitimas Lietuvos ūkiuose įpareigoja atlikti išsamią serologiškai teigiamai reagavusių kiaulių į KRKS viruso antigeną mėsos kokybinių rodiklių analizę, identifikuoti pokyčius ir aptarti jų pradininkus. Žinant tokių gyvulių mėsos morfologinius, fizikinius, cheminius, biocheminius ir technologinius parametrus, būtų galima programuoti technologinius procesus, siekti optimalaus produkto kokybės ir saugumo santykio.

Norint įvertinti aplinkos, t. y. Infekcijos, svarbą mėsos kokybinių rodiklių pokyčiams, reikia išsiaiškinti patologinio veiksnio įtaką autolizės eigai, diferencijuoti autolizinius, patologinius dėsningumus mėsos morfologinėje struktūroje (Solomon et al., 1998; Ozaki et al., 2001; Taylor et al., 2002).

Medžiagos ir metodai. Žaliavos atpažintis. LVA Virusologijos laboratorijoje (ViraLab) 7 paros prieš gyvulių skerdimą imunofermentinės analizės metodu (ELISA) IDDEX firmos diagnostikumu (JAV) atlikti kiaulių kraujo tyrimai KRKSv išsiaiškinti. Skerdimui atrinkta 30 serologiškai teigiamai reagavusių ir 5 serologiškai neigiamai reagavusių kiaulių mėsos bandiniai.

Kiaulininkystės ūkyje B pagal skerdyklos reglamentą (skerdžiamų gyvulių svoris 80–90 kg, gyvulių priešskerdiminis poilsis – 1 val., svaiginimas – 30 sek, 220 V, 1,3 A, kraujo šalinimas – 5 min., plikimas – 4 min., temperatūra – 62⁰ C, skrodimas ir atidavimas į šaldytuvus – 30 min., temperatūra – 0–2⁰ C) paskersti tiriami gyvuliai.

Temperatūros ir terpės pH matavimas. Skerdžiant (0, 1, 2 val. po skerdimo) gyvulių grupei įbedamuoju termometru „T-100“ (Julabo Labortechnik GmbH, Vokietija) matuota skerdenos temperatūra.

Ties 13 ir 14 šonkauliu įbedamuoju pH matuokliu „NWK Binar pH - K21 CE“ (BinarLab, Vokietija) išmatuota tiriamos gyvulių grupės kairiosios ir dešinėsios skerdenų puselių *M.longissimus dorsi* audinių terpės pH₁ ir pH₂₄ (1 ir 24 val. po skerdimo).

Audinių mikrostruktūros tyrimas elektroniniu mikroskopu. Skystame azote atšaldyti 5 min., 4, 24 valanda ir 3, 6 paros po skerdimo 1,5 x 1,5 x 1,5 mm dydžio *M.longissimus dorsi* bandiniai (ties 13 ir 14 šonkauliu) 12 val. fiksuoti buferiu A (2,5% glutaraldehido 0,1 M Na-kakodilato tirpale, pH 7,2, temperatūra 0–4⁰ C). Tada bandiniai tris kartus po 10 min. plauti 0,1 M Na-kakodilato tirpalu (pH 7,2) ir 1 val. fiksuoti buferiu B (1% OsO₄ 0,1 M Na-kakodilato tirpale, pH 7,2, 0–4⁰ C temperatūra). Po to bandiniai tris kartus plauti bidistiliuotu vandeniu, dehidratuoti etanolio ir acetono mišiniu, įlieti į epono ir araldito dervų mišinį. Liejiniai supjaustyti „LKB Ultramicrotome III“ prietaisu (Švedija) 60 nm storio ruošiniais. Segmentai 1 val. kontrastuoti 8%

uranilacetato ir 5 min. 8% švino citrato tirpaluose, plauti bidistiliuotu vandeniu ir 5 min. džiovinti termostate 36⁰ C temperatūroje.

Mikrostruktūra įvertinta elektroniniu mikroskopu „Philips EM 400“ (Švedija) kintama 80 kV įtampa pagal literatūros šaltiniuose (Taylor et al., 1998; Ridgway, 1986) publikuotų metodų rekomendacijas.

Baltymo β₁-integrino atpažintis imunohistocheminiu metodu. Tyrimui naudoti 1 val. po skerdimo skystame azote atšaldyti, 1,0 x 0,5 x 0,5 mm dydžio *M.longissimus dorsi* (ties 13 ir 14 šonkauliu) bandiniai. Jie defrostuoti iki –20⁰ C temperatūros ir priklijuoti prie metalinių platformų „2800 Frigocut N 2“ (Leica A/S, Vokietija) mikrotomu bandiniai supjaustyti 6 μm storio skersinio raumenų pjūvio ruošiniais, kurie pritvirtinti prie objektyvų stiklelių ir 10 min. rehidruoti PBS buferyje (NaCl 136 mM, KCl 2 mM, Na₂HPO₄ 10 mM, KH₂PO₄ 2 mM, pH 7,2). Tada bandiniai 10 min. blokuoti 10% ožkų serumu PBS buferyje ir 1 val. kambario temperatūroje inkubuoti 10 μm/mL anti β₁-integrin monoclonal antikūno 50 μl tūryje (Clone CD 29, Chemicon, Temecula, JAV). Inkubavus bandiniai plauti tris kartus po 10 min. PBS buferiu ir vėl 1 val. inkubuoti su 50 μl, 10 μm/mL fluorescuojantį junginį turinčiu „Alexa 488“ antriniu antikūnu (Molecular Probes, Eugene, JAV). Vėliau – keturis kartus po 15 min. plauti PBS buferyje ir padengti gliceroliu DAPCO (DAPCO, Sigma, St.Louis, JAV).

Imunofluorescencinės nuotraukos analizuotos „Leica DmIrb“ (Leica A/S, Vokietija) fluorescencijai invertuotu mikroskopu ir kompiuterine analizės sistema (Cool Snap, Photometrics Inc., Vokietija). Nuotraukos spausdintos kompiuterine programa „Image pro plus“ (Image House, Danija).

Vandens rišlumo gebos nustatymas Grau ir Hammo metodu. Vandens rišlumo gebai (VRG) nustatyti naudotas bepelenis filtro popierius, tris paras išlaikytas eksikatoriuje su sočiuoju CaCl₂ tirpalu (drėgnis 8–9%). 0,0001 tikslumu pasverti filtrai buvo surūšiuoti, paženklinėti ir sudėti į drėgmei nelaidžią tarą (24 val., 0–4⁰ C temperatūroje).

Po 1, 2, 3, 6 autolizės parų 0,01 g tikslumu pasverti 0,3 g bandiniai (n=3), ruošti presavimo procedūrai. Blokas presavimui formuotas šia seka: dėtas lygus, drėgmę neabsorbuojantis paviršius (stiklo plokštelė), paruoštas bepelenis filtro popierius, bandinys, apskrita (Ø 9–11 cm) polietileno skiautė. Blokas 1 kg svoriu presuotas 10 minučių.

Gauta kontūrinė drėgmės dėmė – vidinė (bandinio perimetras) riba iš karto supresavus, išorinė (mėsos syvų perimetras) riba – padžiovinus kambario temperatūroje. Mėsos syvų plotas apskaičiuotas naudojant kompiuterinę analizės programą: eksperimentų rezultatai, mėsos syvų dėmės ant bepelenių filtrų popieriaus nuskenuoti, o vaizdų apdorojimo programa „Adobe Photoshop“ išskirtas tik tas lopinėlis, kurio plotą reikia apskaičiuoti.

Vandens rišlumo gebos nustatymas mėsos syvų lašos metodu (HoniceL, 1998). Po 24 valandų *post-mortem* 0,01 tikslumu pasverti 80 g vienodos formos mėsos bandiniai (n=3) sudėti į drėgmės neabsorbuojantį tinklinį konteinerį, o šis – į plastikinį. Plastikinė tara sandariai uždaryta taip, kad tinklėlyje esanti mėsa neturėtų sąlyčio

taškų su vidiniu plastikinės taros paviršiumi. Paruošti bandiniai su tara laikyti 1–5⁰ C temperatūroje ir po 24 valandų sverti. Prieš sveriant išimtas bandinys švelniai nusaustas. Tas pats bandinys buvo naudojamas tolimesniuose tyrimuose nustatant raumenų audinio vandens rišumo gebą 3, 5 autolizės parą, nuostolius skaičiuojant nuo pradinės bandinio masės.

Vandens rišumo geba išreikšta procentais nuo bendros pradinės bandinio masės.

Statistinis rezultatų įvertinimas. Tyrimai atlikti triplikatais, rezultatai apdoroti matematinės statistikos metodais. *M.longissimus dorsi* skaidulų histologinių ir

histocheminių, terpės pH analizės tyrimų rezultatai apdoroti matematinės statistikos programa „General Linear Model procedure“ (GLP), SAS (SAS Inst. Inc., 1999-2000).

Tyrimų rezultatai. Terpės pH, temperatūros tyrimai žaliavos grupėse. Tyrimo metu III gyvulių grupėje užregistruota aukščiausia palyginti su I ir II kiaulių grupėmis kūno temperatūra (iki 42⁰ C) ir greitas terpės pH pokytis pirmąją valandą po skerdimo. Terpės pH₁ vidutinė reikšmė buvo daug mažesnė III gyvulių grupės bandiniuose – 5,34 palyginti su I (pH₁=6,22) ir II (pH₁=6,05) grupių bandinių rezultatais (1 lentelė).

1 lentelė. KRKSv požymiai žaliavoje

Rodikliai	KRKSv indikacija	Žaliavos temperatūra			Terpės pH	
		T _{0h}	T _{1h}	T _{2h}	pH ₁	pH ₂₄
I grupė						
X ± S ₀	-	39,5 ± 0,13	38,34 ± 2,19	34,03 ± 2,28	6,22 ± 0,23	5,63 ± 0,06
II grupė						
X ± S ₀	+	39,40 ± 0,39	36,68 ± 2,42	33,48 ± 1,57	6,05 ± 0,1	5,70 ± 0,04
III grupė						
X ± S ₀	+	41,55 ± 0,50	39,35 ± 0,24	34,88 ± 0,69	5,34 ± 0,05	5,52 ± 0,10

Rezultatai yra reikšmių vidurkis X ± S₀

Tačiau, kaip matyti iš 1 lentelės, visų grupių bandiniuose nebuvo esminio skirtumo ultimatyvios terpės pH₂₄ reikšmių vidurkiuose. Gyvulių kūno temperatūros svyravimai būdingi įvairioms virusinėms infekcijoms, o kiaulių reprodukcinio kvėpavimo sindromo atveju tai yra vienas iš klinikinių požymių (Rossow, 1999). Be to, infekcijos nešiotojai ar turėję kontaktą su infekcija gyvuliai yra labilūs stresui. Šis faktorius, kaip rodo literatūros šaltiniai (Klimas, Klimienė, 2000), laiduoja

ypač žemą raumenų audinio pH₁ vertę ir greitą glikolizinį procesą, kurie savo ruožtu daro įtaką žaliavos ir gatavos produkcijos kokybei (Maribo, 1998).

Pagal kiaulių kraujo serologinius tyrimus KRKSv išsiaiškinti, kūno temperatūros matavimus skerdimo metu ir terpės pH₁ kaitą pirmąją valandą po skerdimo, kiaulės preliminarai buvo suskirstytos į kokybines grupes (2 lentelė, „Pradinis skirstymas“).

2 lentelė. Žaliavų klasifikacija

Žaliavų grupės		Santrumpa
Pradinis skirstymas	Galutinis skirstymas	
I	Kontrolė (serologiškai neigiamos)	K
II	Nustatyta tik KRKSv	I _{nf}
III	Nustatyta mišri infekcija (infekuota KRKSv ir bakterine infekcija)	MI _{nf}

Mokslinėje literatūroje (O'Halloran et al., 1997) dažniausiai sutinkamas pirminis skerdenų klasifikacijos į kokybines grupes principas remiasi terpės pH identifikavimu ir temperatūros raumenų audinyje pirmąją valandą po skerdimo matavimu. Todėl tikėtina, kad eksperimento metu tiriamų gyvulių rūšiavimas į kokybines grupes pagal tris kriterijus – serologinius, skerdenos temperatūros ir pH tyrimus – yra objektyvus ir patikimas.

Morfologinės raumenų audinio struktūros tyrimai. Iki šiol didžioji dalis mokslinių tyrimų buvo atlikti naudojant sveiką ar sąlyginai sveiką gyvulinę žaliavą (Henckel et al., 1997). Nėra sistemos, pagal kurią infekuoto gyvulio audiniai gali būti priskiriami vienai ar kitai kokybinei grupei. Todėl vėliau, siekiant patvirtinti žaliavos klasifikavimo objektyvumą, šviesiniu mikroskopu (Šalaševičienė, Stankevičius, 2001) ir transmisiniu elektroniniu mikroskopu „Philips EM 400“ (Philips, Švedija) atlikti serologiškai teigiamai reagavusių kiaulių ir

KRKS viruso antigeną, ilgiausiųjų nugaros raumenų (5 min., 1 val., 1, 3, 6 paros po skerdimo), plaučių, limfinių mazgų ir blužnies histologiniai tyrimai. Autolizės procesams daro įtaką tiek išoriniai (temperatūros pokyčiai, mikroorganizmų, proteolitinų fermentų veikla, oro sąlygos, natūralūs ir dirbtiniai aktyvatoriai), tiek vidiniai veiksniai, kaip antai audinio struktūra ir sudėtis, gyvo organizmo amžius, organo funkcionalumas skerdimo momentu, regeneracinis audinio potencialas, aplinkos pH, gyvulio skerdimo sąlygos ir patologinio proceso pobūdis. Įvertinti ir numatyti galimus autolizinius pokyčius sudėtinga. Autolizė – tai tik dalis autofermentinių reakcijų katabolinių virsmų visumoje. Todėl autolizės vieta tarp kitų audiniuose vykstančių procesų, tokių kaip fagocitozė, nekrozė, paranekrozė, neapibrėžta. Dažnai šių procesų mechanizmai sutampa, o morfologinės struktūros pokyčių rezultatas panašus.

Autoliziniai, su infekcija susiję pokyčiai yra įvairialypiai ir vyksta visoje ląstelėje, veikdami visus jos

organoidus. Literatūros duomenimis, lyginant sveikų ir virusu infekuotų gyvulių raumenų audinius, pastebėta: pirma, ligos atveju metaboliniai procesai gyvame organizme vyksta intensyviau; tai apsprendžia intensyvesnius autolizės procesus *post-mortem*; antra, fiksuojami atitinkami viruso įtakos padariniai – audinio struktūros ir ląstelės organoidų pokyčiai, viruso dalelės, nebūdingi miocitui kūnai ir dalelės. Todėl eksperimento metu, identifikuojant pokyčius ląstelės organoiduose, pastebėti reiškiniai vertinti autolizinių procesų ir išorinių veiksnių įtakos aspektais. Metabolinių procesų gyvame organizme tyrimų rezultatai matyti 1 paveiksle pateiktose ląstelės organoidų mikronuotraukose.

Elektroniniu mikroskopu atlikta raumenų audinio ultrastruktūros analizė. A, B, K1 mikronuotraukose fiksuotos MI_{nf} ir K raumenų audinio skaidulų branduolių struktūros 4 val. po skerdimo (1 pav.).

Tyrimo metu buvo įvertinta po 25 vnt. kiekvienos gyvulių grupės bandinio tinklelių ir nustatyti dideli skirtumai ($p < 0,05$) tarp MI_{nf} ir K grupių branduolių formų ir turinio – MI_{nf} gyvulių grupės bandiniuose branduolio paviršius nelygus, susidariusios „kišenės“ ir „iškyšos“. Be to, šios grupės bandinių branduolių turinys 1/3 buvo užpildytas kompaktiška ir bazofiline chromatino mase, o kontroliniuose bandiniuose chromatino dariniai susiformavo branduolio periferijoje ir sudarė 1/50 tūrio. I_{nf} grupės bandiniuose buvo matyti branduolių formos ir struktūros pokyčiai, tačiau didelio skirtumo tarp I_{nf} ir K grupių nustatyti nepavyko.

Šiuos reiškinius ląstelės branduolyje E. Rubin ir J.L. Farber (1988) aiškina dvejopai. Autorių nuomone, raumenų ląstelę veikiant įvairiais fiziologiniais veiksniais, esant patologijai, branduolys keičia savo formą ir struktūrą – ypač intensyviai esant ląstelės hiperfunkcijai; tuomet ląstelėje intensyviai sintetinami baltymai, branduolyje susidaro daugybė iškyšų, didėja branduolio paviršius ir sarkoplazmos kontaktinis paviršius (1 pav., A, B). Be to, laikant ilgiau aukštesnėje nei 37⁰ C temperatūroje įvyksta raumenų hiperkontrakcija. Dėl to kinta miocito branduolio kontūrai.

Stebėtina intensyvi chromatino agregacija MI_{nf} bandiniuose leidžia manyti, kad šių darinių epicentrai pradėjo formuotis gyvoje ląstelėje anoksinėmis sąlygomis, t. y. organizmui trūkstant deguonies. Šis pokytis ląstelėje jau susijęs išorinio veiksnio (ligos) įtaka.

Autolizinių kitimų branduolyje analizė parodė, kad vienas iš ankstyvųjų pokyčių branduolyje – brinkimas greičiausiai įvyko MI_{nf} grupės bandiniuose ($p < 0,05$) palyginti su K ir I_{nf} bandinių autolizininiais (4 val. po skerdimo) pokyčiais (1 pav., A ir K1). MI_{nf} grupės branduolių skersmuo buvo 25% didesnis nei kontrolinių. Akivaizdžių skirtumų tarp MI_{nf} ir I_{nf}, taip pat tarp I_{nf} ir K identifiukuoti nepavyko.

Literatūros duomenimis, kitas autolizinis pokytis yra branduolio membranos būklė. Kontrolinės grupės bandiniuose branduolio membranos kontūrai tapo blankūs ir nelygūs 24 autolizės valandą, o MI_{nf} bandiniuose perinuklearinė erdvė plėtėjo pirmąją valandą po skerdimo. Netaisyklingi membranos kontūrai ir trūkiai išoriniame membranos sluoksnyje pastebėti ketvirtąją valandą po skerdimo.

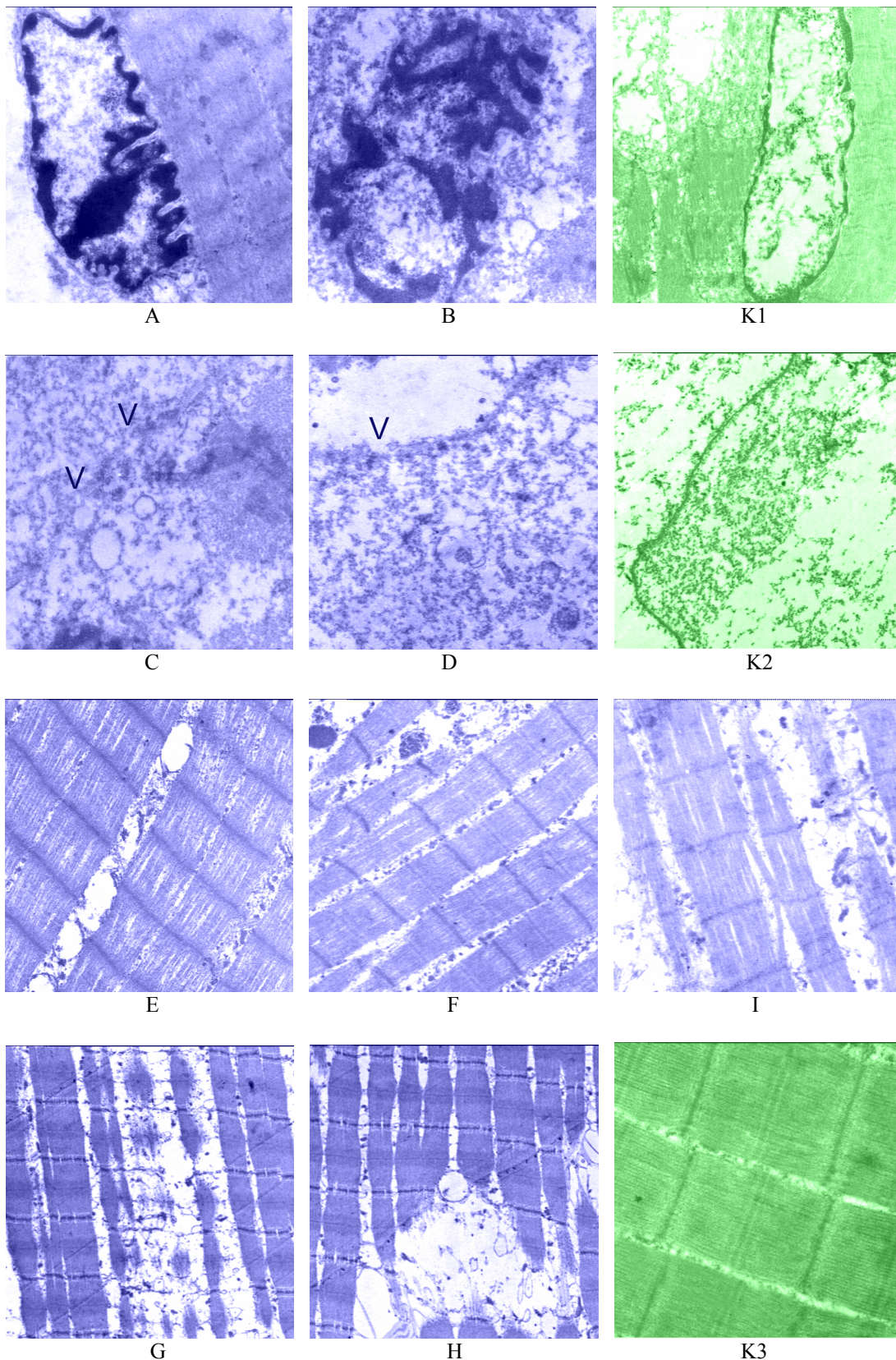
Tyrimų rezultatai sutampa su F.N. Ghadially 1988 m. publikuotais duomenimis. Autoriaus nuomone, branduolio brinkimas susijęs su kintančiu membranos pralaidumu – pralaidumas gerėja parūgštėjus aplinkos terpės pH. Be to, dėl greitesnių irimo procesų ir sutrikusio susidariusių metabolizmo produkto šalinimo branduolyje didėja osmosinis slėgis. Mokslininkas yra tos nuomonės, kad metaboliniai procesai *in vivo* ir *in vitro* spartesni infekuoto ir sergančio gyvūno audiniuose.

Sarkoplazminės membranos būklė taip pat gali rodyti organizmo prisitaikymą prie naujų funkcionavimo sąlygų ir fiziologinių funkcijų. Dėl išorinio veiksnio plazmatinė membrana gali kisti (O'Halloran et al., 1997). Membrana keičia savo paviršiaus plotą sudarydama gaurelius, iškyšas, kilpas (esant ląstelės hiperfunkcijai), sustorėja (esant chroninei hipoksijai) arba sutrūkinėja (Ghadially, 1988). Šių pokyčių identifiukuoti nepavyko nė viename tiriamų grupių bandinyje. Tačiau ankstyvos autolizės požymį – intensyvų sarkoplazminių membranų irimą pradiniam *post-mortem* etape rodė visi MI_{nf} grupės raumenų audinio ruošiniai (1 pav., C, D). Lyginant kontrolinės (1 pav., K2) ir MI_{nf} grupės miocito mikronuotraukus matyti, kad mišria infekcija infekuotų gyvulių grupės sarkoplazminių membranų kontūrai yra neaiškūs, o kontūro trūkiai randasi jau ketvirtą valandą po skerdimo, tačiau bazinės membranos iš dalies išlaiko savo struktūrą. I_{nf} ir K bandinių pomirtiniai membranos pokyčiai (4 val. po skerdimo) tapatūs.

Ankstyvą miocito membranų irimą dauguma autorių (O'Halloran et al., 1997) sieja su staigiu raumenų audinio terpės pH pokyčiu 1–3 val. po gyvulio skerdimo. Sutrikus medžiagų apykaitai ląstelėje, sarkoplazminės membranos pralaidumas didėja ir, esant pakankamai žemai terpės pH vertei, prasideda intensyvus sarkoplazmos brinkimas. Brinkimo metu didėjant miocito tūriui prasideda membranos trūkimo ir gniužimo procesai.

Pokyčiai membranų struktūrose atsiliepė paties miocito struktūrai, miocito subvienetams – miofibrilėms ir fizikinių, cheminių bei biocheminių procesų intensyvumui. MI_{nf} grupės bandinių mikrostruktūros nuotraukose (1 pav. E, F, I) matyti, kad pirmomis valandomis po skerdimo prasidėjo intensyvi miofibrilių dehidracija – tarpmiofibrilinės erdvės išplatėjo, nes aktino ir miozino filamentų bei membranų tinkle imobilizuotas vanduo išstumtas į sarkoplazmą. Didelių pokyčių ($p < 0,05$), palyginti su K grupės miofibrilių struktūra I_{nf} gyvulių grupės miofibrilėse neaptikta.

K. Ozaki, T. Matsuura (2001) nuomone, sveikoje ar sąlyginai sveikoje žaliavoje vienas iš pirmųjų sarkoplazmos autolizinių pokyčių yra brinkimas dėl kintančio osmosinio slėgio. Dėl autolizinių procesų makromolekulės skyla, kaupiasi mažos molekulinės masės junginiai, taip pat ir katijonai. Didelė reikšmė šiame etape priklauso natrio jonų akumuliacijai. Dėl energijos stokos jų transportavimas nutrūksta, dėl to didėja osmosinis slėgis sarkoplazmoje, į ląstelę patenka vanduo, ląstelė brinksta. Antra vertus, žaliavoje sarkoplazmos brinkimas ir sąlyginai vadinamas „laisvas“ vandens atpalaidavimas dažniausiai mokslininkų (Warner et al., 1997) siejamas su raumenų audinio terpės pH



1 pav. MI_{nf} (A, B, C, D, E, F, I, G, H) ir K (K1, K2, K3) grupių miocito organoidų struktūros: branduolys – A, B, K1 (x 8,2); membrana – C, D, K2 (x 8,2); miofibrilės – E (x 3,9), K3 (x 8,2), G (x 5,6), F, I, H (x 6,8)

pokyčių. Dėl padidėjusios plazminės membranos pralaidumo kinta ląstelės sarkoplazmos pH, ir dėl smarkiai parūgštėjusios terpės pradeda brinkti sarkoplazmos baltymai, didėja ląstelės tūris, galop yra miocito membranos. Tarpląstelinės terpės pH susilygina su ląste-

lės turinio terpės pH, prasideda miofibrilių dehidracija. Tačiau viena aišku – autoliziniai pokyčiai miofibrilėse buvo intensyviausi ($p < 0,05$) MI_{nf} grupės bandiniuose.

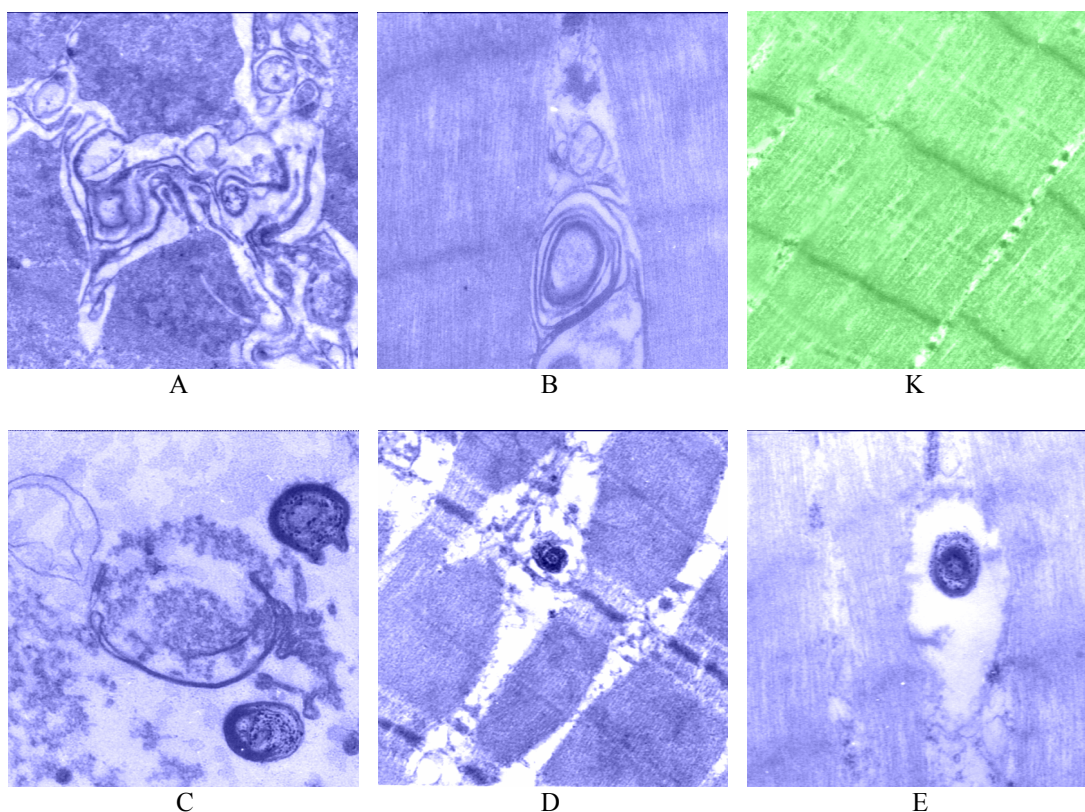
Mišrios infekcijos bandiniuose pastebėtas dar vienas neįprastas miocito struktūros reiškinys – miofibrilių

degeneracija – atrofija (1 pav., G, H). Analizuojant visus MI_{nf} grupės raumenų audinio tinklelius, pastebėtas miocito nunykimas – skersinės ir išilginės miofibrilių degeneracijos, dalinis ar visiškas sarkomerų išnykimas. Miocito degeneracijos pasikartojo ir pastebėtos kiekviename MI_{nf} raumenų pjūvyje. Vertinant degeneracijos srities ir mikroskopuojamo ploto santykį, visuose grupių bandiniuose nustatyta, kad skirtumai tarp kontrolinės ir mišrios infekcijos gyvulių grupės buvo statistiškai patikimi ($p < 0,05$). Tačiau didelių pokyčių ($p > 0,05$) lyginant K ir I_{nf} gyvulių grupės miofibrilių struktūras nepastebėta.

Tiek skersai, tiek išilgai degeneravusios miofibrilės apsuptos sarkoplazmos ir baltyminių struktūrų šleifais (juodų segmentų agregatai). Šis pokytis, literatūros duomenimis (Ghadially, 1988), dažniausiai siejamas su

raumenų audinius veikiančiais patologiniais veiksniais. Tai gali būti denervacija, kraujotakos sutrikimai, metanolinis nepakankamumas, mechaninis, vaistų poveikis ir daugybė kitų ligų, tarp jų raumenų uždegimas ir distrofija. Miofibrilių degeneracijos metu atsirado daugybė ultrastruktūrinių pakitimų, tačiau nė vienas iš jų nėra būdingas ir konkretus minėtiems susirgimams. Priklausomai nuo pataloginio poveikio trukmės, morfologiniai pokyčiai gali būti skirtingi. Ankstyvosiose ligos stadijose dėl nunykusių periferinių miofilamentų galima matyti sumažėjusį miofibrilių spindį. Vėlyvosiose ligos stadijose matyti vieno ir daugiau sarkomerų destrukcijos arba nunykimai, pokyčiai Z-linijose.

Tyrimo metu miocite ir tarpmiocitinėje erdvėje MI_{nf} ir I_{nf} bandiniuose buvo matyti membraninio (2 pav., A, B) ir baltyminio (2 pav., C, D, E) tipo struktūros.



2 pav. MI_{nf} grupės raumenų membraninės struktūros A (x 8,2), B (x 12,5); į virusą panašios dalelės – C, D (x 8,2), E (x 12,5); K grupės raumenų audinys K (x 8,2)

Šios struktūros pastebimos tik pirmos autolizės paros mikropjūviuose. Tikėtina, kad dėl autolizinių procesų jos palaipsniui suyra. Membraninio tipo dariniai lokalizavosi tarpląstelinėje erdvėje, o baltyminio tipo dariniai buvo pastebėti tiek tarpląstelinėje (2 pav., E, F), tiek paties miocito struktūroje (2 pav., G). Membraninio tipo dariniai aptikti 90% visų MI_{nf} bandinių tinkeliuose. Baltyminio tipo dariniai, pavadinti į virusus panašiomis dalelėmis, kurių skersmuo svyravo nuo 120 iki 190 nm, vyravo 70% visų I_{nf} bandinių tinkeliuose. Įvertinus gautus duomenis statistiškai paaiškėjo, kad į virusus panašios dalelės, kurios raumenų audinyje formuojasi pradinėse infekcijos stadijose, dominavo ($p < 0,05$) tik KRKSv infekuotų gyvulių bandiniuose, o membraninės struktūros, susiformuojančios vėlesnėse ligos stadijose, dominavo ($p < 0,01$) mišrios infekcijos gyvulių

grupės bandiniuose.

Iš gautų rezultatų galima manyti, kad infekcija vienaip ar kitaip sąlygoja metabolizmą gyvame organizme, o šis apsprendžia prieš ir po skerdimo vykstančius procesus. Aptariant serologiškai teigiamai reagavusių kiaulių fizikinių rodiklių (terpės pH ir skerdenos temperatūros) rezultatus pastebėta, kad esti kelios infekcijos poveikio gyvulio organizmui formos, o šviesinio ir elektroninio mikroskopavimo technika atskleidė infekcijos pobūdžio ir pokyčių MI_{nf} grupės audinių struktūrose priklausomybę. Apibendrinus tyrimų rezultatus galima teigti, kad fizikiniai rodikliai ir mikrostruktūriniai raumenų audinio tyrimai profazėje buvo informatyvūs ir atskleidė virusinės infekcijos pobūdį žaliavoje. Pagal serologinius kraujų tyrimus KRKSv atžvilgiu, kūno temperatūros matavimus skerdimo metu,

terpės pH₁ kitimą pirmąją valandą po skerdimo ir histologinius raumenų audinio tyrimus žaliava galutinai buvo suskirstyta į tiriamąsias grupes (2 lentelė, „Galutinis skirstymas“).

Gauti tyrimų rezultatai patvirtino T.E. Wittum, N.E. Wollen 1996 metais, B.A. Gardner ir kt. 1999 metais iškeltą hipotezę, kad virusinės infekcijos metu, nusilpus imuninei sistemai, organizmas tampa jautrus, ir ypač antrinei, dažniausiai bakterinei infekcijai. Dėl to dvigubos infekcijos gyvulių grupės bandiniuose pastebėti ženklius pokyčiai organų ir audinių struktūrose. Tikėtina, kad KRKSv ir bakterinės infekcijos sužadinti pokyčiai raumenų audinyje gali veikti cheminę sudėtį ir lemti biocheminių procesų kokybę žaliavoje autolizės metu.

Žaliavos raumenų audinio vandens rišlumo geba. Raumenų audinio vandens rišlumo geba (VRG) yra esminis kokybės rodiklis, kurio optimizavimui gamybiniuose procesuose kreipiamas išskirtinis dėmesys. Mėsos perdirbimo įmonės mažos vandens rišlumo gebos žaliavą sieja su ekonominiais nuostoliais, o vartotojas – su prastomis juslinėmis charakteristikomis (Dransfield, 2001). Raumenų audinio VRG – svarbi kokybinė charakteristika net tik mėsos žaliavoms. Įvairių veiksnių pradiname etape po skerdimo nulemti baltymų pokyčiai daro įtaką gatavo produkto išeigai, sultingumui bei konsistencijai (Palka, 1999).

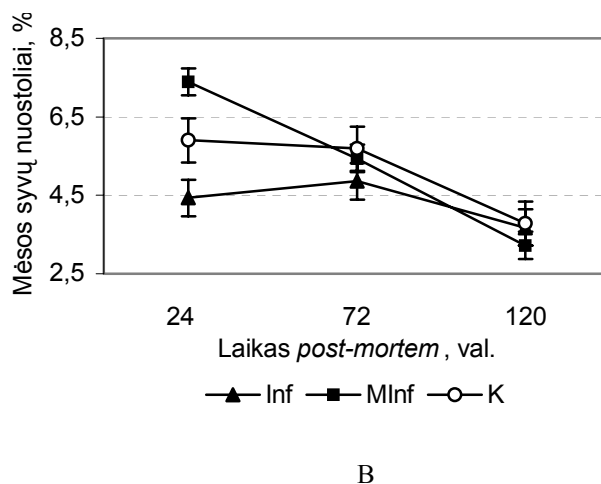
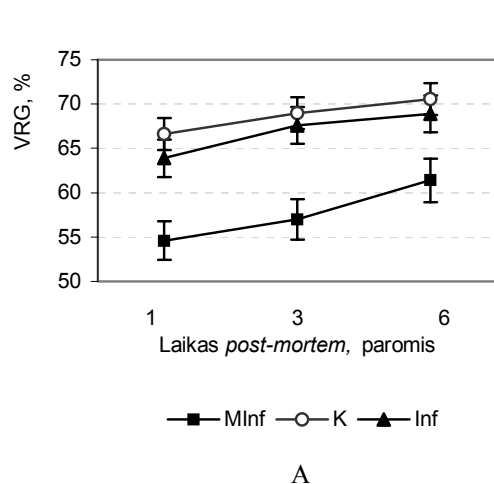
Pastaruoju metu ypač stengiamasi gerinti raumenų audinio VRG autolizės metu, kreipiamas dėmesys į korekcijos būdus technologinio proceso metu (Gouet al., 2002; Maribo, 1996).

Autoliziniai raumenų VRG pokyčiai. Stebėtas VRG didėjimo autolizės procese polinkis atitiko literatūros duomenis (Schafer et al., 2001), kad pakitus baltymų struktūrai padidėja laisvų hidrofilinių grupių skaičius ir pagerėja raumenų hidratacinė savybė. Tačiau vandens

rišlumo gebos kitimo greitis skirtingais autolizės tarpsniais MI_{nf} grupės bandiniuose skyrėsi nuo kontrolės ir I_{nf} grupės kitimo. K ir I_{nf} grupėse vandens rišlumo geba 1–3 parą padidėjo 3,7%, o 3–6 parą tik 1,3%, o mišrios infekcijos grupės bandiniuose buvo stebimas atvirkščias reiškinys. Pirmame periode (1–3 parą) VRG MI_{nf} grupės bandiniuose padidėjo 2,4%, o antrame (3–6 parą) net 4,4%. VRG dažniausiai siejama su terpės pH kitimo intensyvumu ir verte. Šis rodiklis nulemia visų baltyminių struktūrų ir fermentinių sistemų būvį (Ertbjerg et al., 1999).

Raumenų audinio VRG pokyčiai žaliavų kokybinėse grupėse. Analizuojant literatūros šaltinius (Honicel, 1998; Hamm, 1986) paaiškėjo, kad VRG gali būti vertinamas keliais būdais. Tačiau išsamesnė informacija apie raumenų audinio pokyčius autolizės metu gaunama matuojant mėsos syvų nuostolius tame pačiame bandinyje. Taigi vandens rišlumo geba raumenų audinyje eksperimento metu buvo vertinama dvejopai: Grau ir Hamm modifikuotu bei K.O. Honicel metodais (1998). Grau ir Hamm modifikuotu metodu įvertinamas konkrečiu periodu pasiektas mėsos brandumas, o K.O. Honicel metodu – konkrečių raumenų VRG pokyčiai autolizės metu. Abiem atvejais žaliavų kokybinėse grupėse nustatyti esminiai skirtumai.

Pirmojo tyrimo metu paaiškėjo, kad VRG mišrios infekcijos bandiniuose 1, 3, ir 6 autolizės parą buvo atitinkamai 18,1%, 15,7%, 13,9% mažesnė nei K ir I_{nf} grupėse (3 pav., A), tačiau VRG kitimo tendencija autolizės metu – vandens rišlumo gebos didėjimas – analogiškas pokyčiams K ir I_{nf} grupių bandiniuose. I_{nf} grupės bandiniuose 1, 3, 6 autolizės parą nustatytas atitinkamai 4,1%, 2,0%, 1,5% mažesnis nei K gyvulių grupėje.



3 pav. A – VRG nustatymas Grau ir Hamm metodu; B – K.O. Honicel metodu

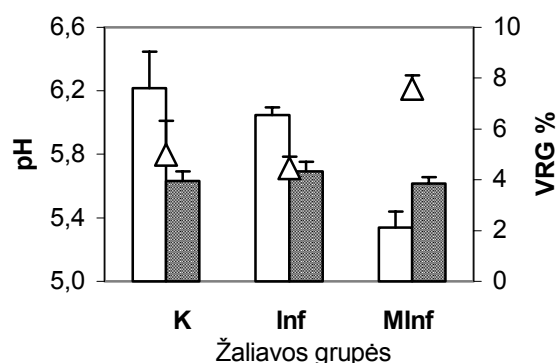
Vandens rišlumo gebos analizė, matuojant mėsos syvų nuostolius konkrečiame raumenų audinyje autolizės metu, pateikta 3 paveiksle (B grafikas). Darbo metu nustatyti mėsos syvų nuostoliai visose bandinių grupėse fiksuotais autolizės proceso intervalais – 24, 72, 120 val. post-mortem. Tyrimas padėjo nustatyti, koku autolizės metu žaliava netenka savo mikrostruktūroje „surišto“ vandens. Išaiškinta, kad 0–24 val. po skerdimo MI_{nf}

grupės bandiniuose raumenų audinys intensyviausiai išskyrė mėsos syvus, kurie buvo 20% ir 39% gausesni nei I_{nf} grupėse. 24–72 val. po skerdimo mišrios infekcijos gyvulių bandiniuose nustatyti vidutiniai palyginti su kitomis gyvulių grupėmis mėsos syvų nuostoliai, 4,6% mažesnis nei K grupės ir 10,66% didesnis nei I_{nf} grupės bandiniuose. Penktą autolizės parą mėsos syvų nuostoliai

MI_{nf} grupės bandiniuose buvo mažiausi – 17,4% ir 14,3% mažesni nei K ir I_{nf} grupių bandiniuose.

Mėsos syvų išsiskyrimo iš raumenų audinio tendencija rodo, kad MI_{nf} grupės bandiniuose jų nuostoliai nuolat mažėja ir penktą autolizės parą yra 17,4% mažesni nei kontrolinės grupės bandinių. Gauta rezultato vienpusiškai, t. y. dėl terpės pH kitimo ir apimties, vertinti negalima. Juolab kad šiuo atveju tyrimams naudojamas vienas ir tas pats raumenų audinio pavyzdys, kuriame didžioji mėsos syvų dalis išsiskyrė pirmosiomis autolizės paromis. Tikėtina, kad raumenų syvų nuostolių kiekybei įtakos turėjo tiek biocheminio proceso pokytis – baltymų denatūracija, tiek morfologinis – skaidulų tipas ir pasiskirstymas raumenų audinyje.

Terpės pH ir raumenų audinio VRG priklausomybė.



4 pav. pH ir mėsos sulčių nuotolių pokyčiai *post-mortem* (□-pH₁, ■-pH₂₄, Δ-sulčių nuostoliai)

Mokslinėje literatūroje R.D. Warner ir kiti autoriai (1997), taip pat J.S. Petersen bei kiti autoriai (1997) nurodo terpės pH_u ir raumenų audinio syvų nuostolių priklausomybę. Mūsų bandymo rezultatai iš dalies sutampa su literatūroje paminėtais teiginiais.

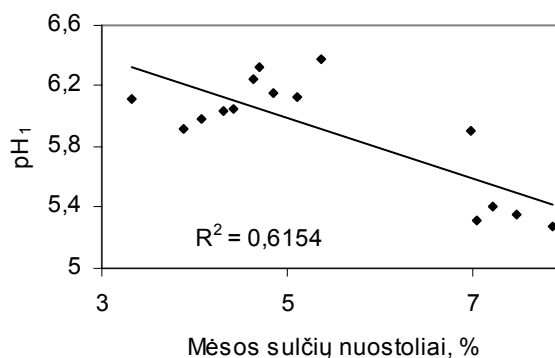
Raumenų audinio ultrastruktūros ir raumenų VRG ryšys. Siekiant įrodyti raumenų vandens rišumo gebos, glikolizinių procesų spartos ir ultrastruktūros pokyčių priklausomybę mišrios infekcijos gyvulių mėsos bandiniuose, atliktas histocheminis baltymo β₁-integrino irimo miocite tyrimas.

Moksliniame darbe (Karlsson et al., 1999) išsamiai aprašyti raumenų audinio vandens rišumo pokyčiai dėl kontrakcijos reiškinių miofibrilėse intensyvios glikolizės sąlygomis. Buvo nustatyta, kad dėl staiga sumažėjusios adenozintrifosforo rūgšties (ATP) koncentracijos, kaupiantis rūgštims (pieno, piruvinei, fosforo) suyra dikarbonatinis buferis, iš plazmos išsilaisvina kalcis, kuris sąlygoja aktino ir miozino komplekso susidarymą. Pastarasis lemia didesnius raumenų syvų nuostolius bet kokioje pH terpėje (Qiao et al., 2001). Autorių nuomone, tai įvyksta dėl dviejų priežasčių: pirma, aktomiozino komplekso vandens rišumo geba yra mažesnė nei miozino ir aktino atskirai paėmus; antra, pakitusi ATP koncentracija skatina baltymų, kurių struktūros vientisumas ir savybės priklauso nuo energetinių junginių *in vivo*, denatūraciją.

Anot R.E. Klont, L. Brocks ir kitų mokslininkų, be išilginės miofibrilių kontrakcijos įtakos raumenų audinio VRG, intensyvios glikogenolizės sąlygomis vyksta

Literatūros šaltiniuose dažniausia VRG pokyčių priežastis nurodoma terpės pH kitimo greitis profazėje. Jis pripažįstamas lemiamu veiksniu, darančiu įtaką raumenų audinio baltymų vandens rišumo gebai. R.D. Warner ir kiti autoriai 1997 m. nustatė, kad, intensyviai krentant terpės pH, pradiniam etape vyksta aktyvi sarkoplazmos baltymų denatūracija, kuri savo ruožtu sukelia mėsos žaliavos vandeningumą.

Tyrimo metu nustatytas intensyvus glikogenolizės procesas mišrios infekcijos grupės bandiniuose ir jo pasekmė – didžiausi (p<0,01) raumenų audinio syvų nuostoliai pirmąją parą po skerdimo (4 pav.). Nustatyta didelė raumenų terpės pH₁ ir raumenų syvų koreliacinė priklausomybė (5 pav.).



5 pav. Terpės pH₁ ir raumenų sulčių nuotolių koreliacija

skersinę miofibrilių kontrakciją. E.H. Morrison, M.M. Mielche ir kiti tyrėjai pabrėžia, kad dėl skersinės miofibrilių kontrakcijos įvyksta skersinės skaidulos ir skaidulų pluoštų kontrakcijos. Dėl to išilgai *perimysium* audinių susidaro mėsos syvų „nuotėkų“ kanalai. Autoriai teigia, kad raumenų audinio syvų nuostoliai priklauso nuo skersinės miofibrilių kontrakcijos. Šiame eksperimente skersinė miofibrilių kontrakcija nebuvo statistiškai įvertinta, todėl lyginamųjų VRG ir miofibrilių kontrakcijos lygmens miocite duomenų nėra. Tačiau MI_{nf} gyvulių grupės raumenų audinio skersinio pjūvio mikrostruktūra (Šalaševičienė, Stankevičius, 2001) akivaizdžiai įrodė, kad „nuotėkų“ kanalai susidaro pirmąją valandą po skerdimo, o tyrimai elektroniniu mikroskopu parodė platėjančius tarpmiofibrilinius (1 pav., E, F, I) tarpus profazėje. Be to, tiriant mišrios infekcijos gyvulių raumenų audinio struktūrą pastebėtos išilginės miofibrilių degeneracijos (1 pav., G). Susidariusiose išilginiuose tarpuose vyravo sarkoplazmos baltymai, kurie intensyvios glikogenolizės sąlygomis denatūravo, suformuodami antrinius „nuotėkų“ kanalus mėsos syvams iš raumenų audinio nutekėti.

Norint išsiaiškinti raumenų audinio syvų susidarymo mechanizmą, buvo atlikti žaliavos grupių histocheminiai baltymo β₁-integrino kitimo pirmąją autolizės parą chemiliuminiscenciniai tyrimai.

Miocito membrana su ląstelės kūnu susieta židininio pobūdžio baltymo β₁-integrino adhezija. Manoma, kad autolizės metu šis membranos ir ląstelės ryšys yra veikiamas fermentų kalpainų (normalios glikogenolizės

sąlygomis) arba suyra raumenų terpės pH pasislinkus į rūgštinę pusę (intensyvios glikogenolizės sąlygomis). Šio baltymo kitimo metu susiformuoja vadinamieji „nuotėkų“ kanalai. Tačiau E.H. Morrison, M.M. Mielche ir kiti autoriai, tyrę baltymų desmino ir vinkulino, kaip jungiančios grandies tarp sarkolemos ir miofibrilių, kitimą *post-mortem* konstatavo, kad pastarųjų baltymų kitimas apsprendžia „nuotėkų“ kanalų susiformavimą, o ypač desmino irimas IIB tipo skaidulose.

β_1 -integrino kitimo pirmąją autolizės parą MI_{nf} ir kontrolinės grupės bandiniuose tyrimo duomenys pateikti 6 paveikslo A, B, C, D, E ir F mikronuotraukose.

Fluorescencinio švytėjimo intensyvumas (balta spalva) parodo β_1 -integrino lokalizacijos pobūdį, jo koncentraciją raumenų audinyje. Tipinis β_1 -integrino fluorescencinis intensyvumas K grupės gyvulių raumenų audinyje 1 val. po skerdimo matomas 6 paveikslo C_1 nuotraukoje. Fluorescencinis švytėjimas rodo, kad raumenų skaidula yra apjuosta baltymo β_1 -integrino žiedo periferijoje, o spalvos intensyvumas 1 val. *post-mortem* rodo, kad šio baltymo koncentracija raumenų audinyje yra didžiausia. Tuo pačiu stebėjimo laikotarpiu raumenų mikrostruktūros nuotraukoje matyti, kad raumenų audinio struktūra vientisa, miocitai normalios struktūros (6 pav., A_1), taigi tarpuskaidulinių, o juo labiau skaidulinių „nuotėkų“ kanalų nėra (6 pav., B_1). Po 24 valandų fluorescencinio švytėjimo intensyvumas mažesnis, periferinis baltymo žiedas praradęs vientisumą (6 pav., C_{24}). Tuo pačiu stebėjimo laikotarpiu raumenų audinio mikrostruktūroje (6 pav., A_{24}) stebimi susiformavę tarpuskaiduliniai „nuotėkų“ kanalai, o elektroninio mikroskopo duomenys parodė, kad ir skaiduloje yra susiformavę „nuotėkų“ kanalai (6 pav., B_{24}).

Baltymo β_1 -integrino kitimas mišrios infekcijos gyvulių grupės bandiniuose pirmąją parą po skerdimo matomas 6 paveikslo D, E, F mikronuotraukose. Pirmąją valandą po skerdimo raumenų mikrostruktūra MI_{nf} gyvulių grupėje panaši į kontrolinės grupės gyvulių raumenų struktūrą 24 val. po skerdimo – stebima erdvė tarp sarkolemos ir miofibrilių masės (6 pav., D_1 , E_1), o β_1 -integrino fluorescencinis švytėjimas miocito periferijoje netolygus, baltymo luminescenciniame žiede matyti trūkiai. Todėl manome, kad nemaža baltymo β_1 -integrino dalis denatūravosi jau pirmosiomis valandomis po skerdimo. Praėjus 24 val. po skerdimo raumenų mikronuotraukose matyti platūs „nuotėkų“ kanalai, sarkolema praradusi vientisumą (6 pav., D_{24} , E_{24}), baltymas β_1 -integrinas praradęs struktūrą (6 pav., F_{24}). Šie stebėjimai sutampa su raumenų vandens rišlumo gebos rezultatais – 24 val. po skerdimo MI_{nf} gyvulių grupės bandiniai turėjo didžiausių mėsos syvų nuostolių.

Vandens rišlumas – pagrindinis mėsos, naudojamos dešroms, karštai rūkytiems produktams gaminti, technologinis rodiklis. Ši žaliavos savybė lemia produkto sultingumą, išėigą ir švelnią konsistenciją. Todėl išsamios ir kokybiškos žinios šioje srityje leistų prognozuoti technologinius procesus siekiant optimalios produkto kokybės ir gerų ekonominių rezultatų.

Apibendrinant raumenų audinio vandens rišlumo gebos stebėjimų rezultatus kokybinėse grupėse galima teigti, kad mišrios infekcijos veikiami pokyčiai raumenų audinio ultrastruktūroje apsprendė sparčiai mažėjantį pH

ir mažą jo vertę pirmąją valandą po skerdimo. Tai nulėmė:

1. baltymo β_1 -integrino adhezinio komplekso struktūros vientisumo praradimą,

2. didžiausius ($p < 0,01$) raumenų audinio syvų nuostolius pirmąją parą po skerdimo.

Tyrimo metu nustatytas intensyvus glikogenolizės procesas mišrios infekcijos gyvulių grupės bandiniuose sukėlė daugelį biocheminių pokyčių (denatūracija, „nuotėkų“ kanalai) raumenų audinio mikrostruktūroje. Jie apsprendė didesnius raumenų syvų nuostolius mišrios infekcijos grupės bandiniuose.

Išvados.

1. Žaliavos fizikinių rodiklių profazėje tyrimai teikia išsamesnę informaciją apie virusinės infekcijos įtaką žaliai ir leidžia preliminarai klasifikuoti žalias pagal ligos pobūdį į infekuotas tik KRKS virusu ir infekuotas KRKS virusu bei antrine bakterine infekcija.

2. Mikrostruktūriniai vidaus organų ir raumenų audinio tyrimai patvirtina žaliavų klasifikavimo objektyvumą.

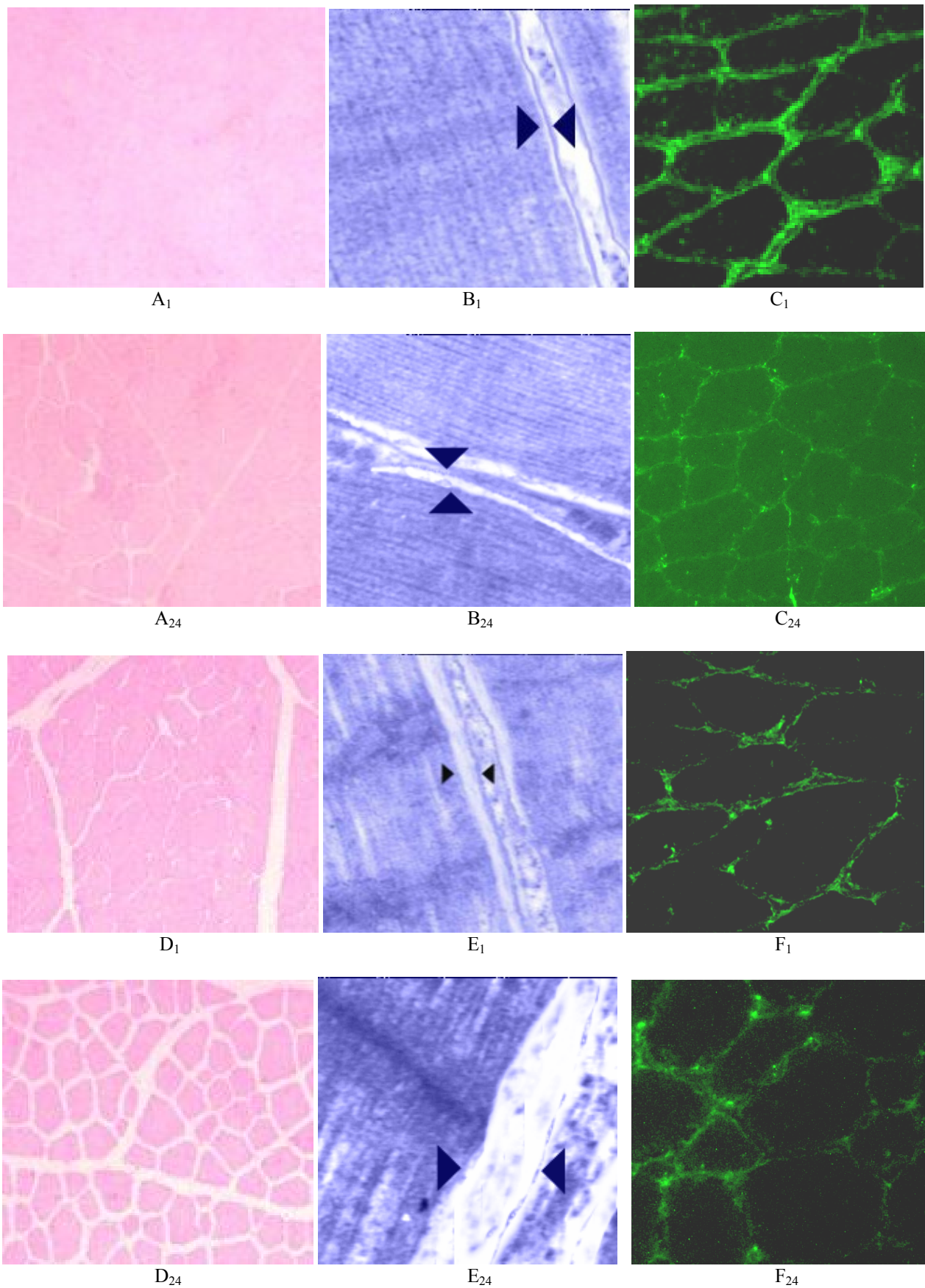
3. Infekuotos žaliavos raumenų audinio ultrastruktūros tyrimų duomenys patvirtina klasifikavimo objektyvumą ir duoda galimybę įvertinti infekcijos poveikio audiniams apimtį ir trukmę.

4. Mišrios infekcijos gyvulių grupės raumenų audinyje identifikuoti KRKSv ir antrinės bakterinės infekcijos paskatinti pokyčiai – kintanti miocito branduolių struktūra, skersinės ir išilginės miofibrilių degeneracijos, membraninės ir į virusus panašios struktūros bei ankstyvos autolizės reiškiniai – miocito branduolių brinkimas, sarkoplazminių membranų irimas, miofibrilių dehidracija ir „nuotėkų“ kanalų susidarymas miocite.

5. Morfologinių ir technologinių rodiklių analizė parodė, kad mišri infekcija (KRKSv ir bakterinė) turi įtakos raumenų audinio vandens rišlumo gebai, kuri būdinga PSE (blyškiai, porėtai, vandeningai) mėsei.

Literatūra

- Dransfield E. Consumer's issue and acceptance of meat. 47th International Congress of Meat Science and Technology. Congress proceedings (Krakow, 26–31 August, 2001). Krakow, 2001. Vol. 1. P. 72–79.
- Ertbjerg P., Henckel P., Karlsoon A., Larsen L.M. & Moller A.J. Combined effect of epinephrine and exercise on calpain/calpastatin and cathepsin B and L activity in porcine *Longissimus* muscle. Journal of Animal Science, 1999. Vol. 77. P. 2428–2436.
- Gardner B.A., Dolezal H.G., Bryant L.K., Owens F.N. & Smith R.A. Health of finishing steers: effects on performance, carcass traits and meat tenderness. Journal of Animal Science. American Society of Animal Science, 1999. V. 77. P. 3168–3175.
- Ghadially F.N. Ultrastructural pathology of the cell and matrix. London, 1988. P. 1291.
- Gou P., Comaposada J., Arnau J. Meat pH and meat fibre direction effects on moisture diffusivity in salted ham muscles dried at 5 °C. Meat Science. 2002. Vol. 61. P. 25–31.
- Hamm R. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. Muscle as Food, ed. Bechtel P.J. Academic Press. Orlando, 1986. P. 135–199.
- Henckel P., Oksbjerg N., Erlandsen E., Barton-Gade P. & Bejerholm C. Histo- and biochemical characteristics of the Longissimus dorsi muscle in pigs and their relationships to performance and meat quality. Meat Science, Elsevier Science Ltd., 1997. V. 47. P. 311–321.
- Honikel K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. Meat Science, 1998. Vol. 49(4). P. 447–457.
- Honikel K.O. & Hamm R. Measuring of water holding capacity and juiciness. Pearson A.M., Dutson T.R. eds. Quality attributes and their measurements. Blackie Academic & Professional Glasgow, UK. 1994. P. 125–161.



6 pav. Raumenų audinio struktūra praėjus 1 ir 24 val. po skerdimo: A, B, C – K grupė; D, E, F – MI_{nf} grupė

10. Joo S.T., Kauffman R.G., Kim B.C., Park G.B. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Science*, 1999. Vol. 52. P. 291–297.
11. Fiedler I., Schoppmeyer A., Kuhn G., Klosowska D., Elminovska-Wenda G., Walasik K. & Ender K. Relationships between occurrence of histopathological muscle fibres and meat quality in pigs of a breeding station. 47th International Congress of Meat Science and Technology. Congress Proceedings (Krakow, 26–31 August, 2001). Krakow, 2001. Vol. 2. P. 198–199.
12. Karlsson A.H., Klont R.E. & Fernandez X. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livestock Production Science*, 1999. Vol. 60 (2-3). P. 255–269.
13. Klimas R., Klimienė A. Genetinių faktorių įtaka kiaulių mėsos kokybei. *Maisto chemija ir technologija*. 2000. T. 34. P. 50–53.
14. Klont R.E., Brocks L., Eikelenboom G. Muscle fiber type and meat quality. *Meat Science*, 1998. Vol. 49. P. S219–S229.
15. Lawson M.A., Schafer A. The relationship between integrins, calpains and drip channel formation in pork. 48th International Congress of Meat Science and Technology. Congress Proceedings (Rome, 25–30 August, 2002). Rome, 2002. Vol. 2. P. 572–573.
16. Maribo H. Effect of the slaughter process on temperature, pH fall and meat quality in pigs. PhD thesis, 1998. P.127.
17. Maribo H. Temperature development in interaction of pre-slaughter stress and low voltage electrical stimulation on muscle proteolytic enzymes and meat tenderness of lambs. 42th International Congress of Meat Science and Technology. Congress Proceedings (Lillehammer, 1–6 September, 1996). Lillehammer, 1996. Vol. 2. P. 421–422.
18. Monin G. & Laborde D. Water holding capacity of pig muscle protein: interaction between the myofibrillar proteins and sarcoplasmic compounds. *Science Aliments*, 1985. Vol. 5. P. 341–345.
19. Morrison E.H., Mielche M.M., Purslow P.P. Immunocalcification of intermediate filament proteins in porcine met. Fibre type and muscle-specific variations during conditioning. *Meat Science*, 1998. Vol. 50. P. 91–104.
20. O'Halloran G.R., Troy D.J. & Buckley D.J. The relationship between early post mortem pH and tenderization of beef muscle. *Meat Science*, 1997. Vol. 45. P. 239–251.
21. Ozaki K., Matsuura T., Narama I. Histochemical and morphometrical analysis of skeletal muscle in spontaneous diabetic WBN/Kob rat. *Acta Neuropathology*. Springer-Verlag Press, 2001. V. 102. P. 264–270.
22. Palka K., Daun H. Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine *M.semitendinosus* during heating. *Meat Science*, 1999. Vol. 51. P. 237–243.
23. Pavlin J.A., Gilchrist M.J., Osweiler G.D., Woollen N.E. Diagnostic analyses of biological agent-caused syndromes: laboratory and technical assistance. *Emergency Medical Clinics of North America*, 2002. Vol. 20 (2). P. 331–350.
24. Petersen J.S., Henckel P., Maribo H., Oksbjerg N., Sorensen M.T. Muscle metabolic traits, postmortem pH decline and meat quality in pigs subjected to regular physical training and spontaneous activity. *Meat Science*, 1997. Vol. 46. P. 259–275.
25. Ridgway R.L. Flat, adherent well-contrasted semi thin plastic sections for light microscopy. *Stain Technology*. Pergamon Press, 1986. Vol. 61. P. 253–255.
26. Rossow K.D. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in neonatal pigs characterized by marked neurovirulence. *Veterinary Record*, 1999. Vol. 144 (16). P. 444–448.
27. Rubin E., Farber J.L. Pathology. Philadelphia, 1988. 1576 P.
28. Schafer A., Rosenvold K., Purslow P.P., Andersen H.J., Henckel P. Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork. 47th International Congress of Meat Science and Technology. Congress Proceedings (Krakow, 26–31 August, 2001). Krakow, 2001. Vol. 2. P. 134–135.
29. Segales J., Domingo M., Solano G.I., Pijanón C. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Haemophilus parasuis* antigen distribution in dually infected pigs. *Veterinary Microbiology*. Elsevier Science B.V., 1999. V. 64. P. 287–297.
30. Solomon M.B., Van Laack R.L.J.M. & Eastridge J.S. Bio-physical basis of pale, soft, exudative (PSE) pork and poultry muscle: a review. *Journal of Muscle Foods*. Food & Nutrition Press, 1998. V. 9. P. 1–11.
31. Sonesson A.K., De Greef K.H., Meuwissen T.H.E. Genetic parameters, trends of meat quality and carcass composition and performance traits in to selected lines of Large White pigs. *Livestock Production Science*, 1998. Vol. 59. P. 255–269.
32. Stankevičienė M., Stankevičius A. Kiaulių reprodukcinių ir kvėpavimo sindromo viruso (KRKSV) seropizootiniai tyrimai Lietuvos kiaulininkystės ūkiuose. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 20 (42). 2002. P. 51–58.
33. Šalaševičienė A., Stankevičius H. Kiaulių mėsos biocheminiai ir morfologiniai pokyčiai teigiamai reaguojančių į KRKSV antigeną. *Maisto chemija ir technologija*, 2001. T. 35. P. 140–145.
34. Qiao M., Fletcher D.L., Smith D.P., Northcutt J.K. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water holding capacity and emulsification capacity. *Poultry Science*, 2001. Vol. 80. P. 676–680.
35. Taylor R.G., Labas R., Smulders F.J.M., Wiklund E. Ultrastructural changes during aging in *M.longissimus thoracis* from moose and reindeer. *Meat Science*. Elsevier Science Ltd., 2002. V. 60. P. 321–326.
36. Thanawongnuwech R., Brown G.B., Halbur P.G., Roth J.A., Royer R.L. & Thacker B.J. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infection increase in susceptibility to streptococcus suis infection. *Veterinary Pathology*. Elsevier Science B.V., 2000. V. 37. P. 143–152.
37. Taylor R.G. & Koohmaraie M. Effects of *post-mortem* storage on the ultra structure of endomysium and myofibrils in normal and callipyge longissimus. *Journal of Animal Science*. American Society of Animal Science, 1998. Vol. 76. P. 2811–2817.
38. Warner R.D., Kauffman R.G. & Greaser M.L. Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality. *Meat Science*, 1997. Vol. 45. P. 339–352.
39. Wittum T.E., Woollen N.E., Perino L.J. & Littledike E.T. Relationship among treatment for respiratory tract disease, pulmonary lesions evident at slaughter, and rate of weight gain in feedlot cattle. *Journal American. Vet. Med. Association*, 1996. Vol. 209. P. 814–818.