

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**FIZIOLOŠKI ODGOVOR I KVALITETA MESA ŽIVOTINJA IZLOŽENIH
TRANSPORTNOM STRESU**

DIPLOMSKI RAD

Grgo Topić

Zagreb, rujan 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**FIZIOLOŠKI ODGOVOR I KVALITETA MESA ŽIVOTINJA
IZLOŽENIH TRANSPORTNOM STRESU**

DIPLOMSKI RAD

Grgo Topić

Mentor:

prof. dr. sc. Krešimir Salajpal

Zagreb, rujan 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Grgo Topić**, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

FIZIOLOŠKI ODGOVOR I KVALITETA MESA ŽIVOTINJA IZLOŽENIH TRANSPORTNOM STRESU

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Grge Topića**, naslova:

FIZIOLOŠKI ODGOVOR I KVALITETA MESA ŽIVOTINJA IZLOŽENIH TRANSPORTNOM STRESU

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. prof. dr. sc. Krešimir Salajpal mentor

2. prof. dr. sc. Zoran Luković član

3. prof. dr. sc. Antun Kostelić član

SAŽETAK

Transport životinja do klaonica predstavlja značajan izazov u proizvodnji mesa, jer stres povezan s transportom ima negativan utjecaj na fiziološke procese i kvalitetu mesa. Tijekom transporta dolazi do povećanja razine hormona stresa poput kortizola i adrenalina, što pokreće kataboličke procese u organizmu životinja. Ovi procesi uključuju razgradnju glikogena u mišićima, što u anaerobnim uvjetima dovodi do stvaranja mliječne kiseline. Povećana koncentracija mliječne kiseline smanjuje pH vrijednost mesa, uzrokujući stanje poznato kao BMV (blijedo, mekano, vodenasto), posebno kod svinja. S druge strane, produženi stres može dovesti do iscrpljenja zaliha glikogena, što sprječava stvaranje mliječne kiseline i rezultira visokom pH vrijednosti mesa, poznatom kao TČS (tamno, čvrsto, suho) meso, što je posebno uočljivo kod goveda i ovaca. TČS meso ima smanjenu sposobnost zadržavanja vode, što ga čini manje atraktivnim potrošačima i sklonom bržem kvarenju. Smanjenje transportnog stresa donosi ne samo etičke koristi za životinje, već i ekonomske prednosti za proizvođače mesa. Poboljšana kvaliteta mesa rezultira većim prihodima i zadovoljstvom potrošača, što dugoročno doprinosi održivosti i profitabilnosti proizvodnje mesa.

Ključne riječi: stres, transport, fiziološki odgovor, kvaliteta mesa

SUMMARY

The transport of animals to slaughterhouses poses a significant challenge in meat production, as the stress associated with transport negatively affects physiological processes and meat quality. During transport, levels of stress hormones such as cortisol and adrenaline increase, triggering catabolic processes in the animals' bodies. These processes involve the breakdown of glycogen in the muscles, which under anaerobic conditions leads to the production of lactic acid. The increased concentration of lactic acid lowers the pH value of the meat, causing a condition known as PSE (pale, soft, exudative), particularly in pigs. On the other hand, prolonged stress can lead to the depletion of glycogen reserves, preventing the formation of lactic acid and resulting in a high pH value of the meat, known as DFD (dark, firm, dry) meat, which is particularly noticeable in cattle and sheep. DFD meat has a reduced ability to retain water, making it less attractive to consumers and more prone to spoilage. Reducing transport stress brings not only ethical benefits for the animals but also economic advantages for meat producers. Improved meat quality results in higher revenues and consumer satisfaction, contributing to the sustainability and profitability of meat production in the long run.

Keywords: stress, transport, physiological response, meat quality

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. POJMOVNO ODREĐENJE STRESA	2
2.1. Neurofiziološka osnova stresa	2
2.2. Neuroendokrina regulacija odgovora na štetne čimbenike	3
2.2.1. Aktivacija osi Hipotalamus – srž nadbubrežne žlijezde	4
2.2.2. Aktivacija osi hipotalamus – hipofiza - nadbubrežna žlijezda (HPA)	4
2.3. Odgovor organizma na podražaj iz okoline	5
2.3.1. Manipulacija sa životinjama	5
2.3.2. Fiziološke promjene u organizmu u stanjima stresa	9
3. TRANSPORTNI STRES	16
4. TRANSPORTNI STRES I KVALITETA MESA	23
5. ZAKLJUČAK.....	34
LITERATURA.....	35

1. UVOD

Transport životinja je uobičajena uzgojna aktivnost kojoj se podvrgavaju životinje prilikom otpreme na klanje, u objekte za tov, na izložbe, sportska natjecanja, radi rasplodivanja i sl. On uključuje grupiranje i utovar životinja, put do odredišta te istovar i smještaj u nove objekte. Pri tome životinje mogu biti izložene pojačanom fizičkom naporu, nepovoljnim mikroklimatskim uvjetima, gladovanju, novom okruženju te interakciji s drugim životinjama i ljudima što su potencijalno stresni čimbenici. Kao odgovor na navedene stresore organizam životinje reagira promjenama u ponašanju, promjenom fizioloških i metaboličkih pokazatelja što posljedično utječe i na kvalitetu mesa zaklanih životinja.

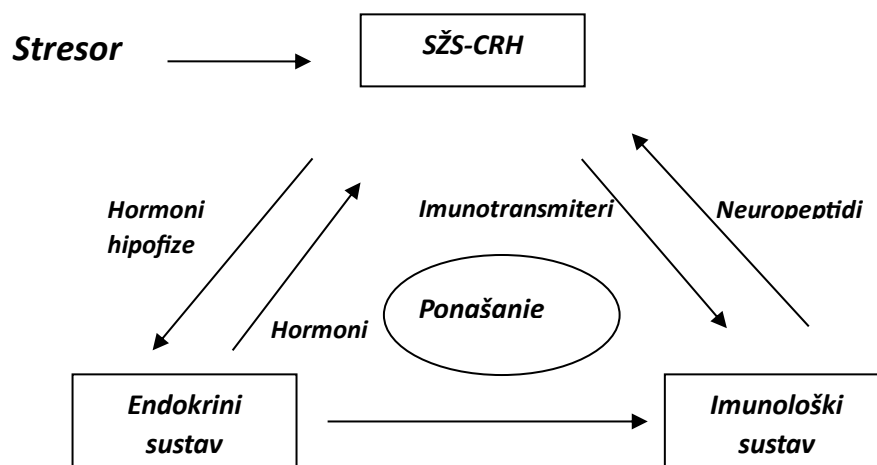
Cilj rada je dati pregled promjena u organizmu životinja uslijed transporta s naglaskom na metabolički odgovor i posljedično kvalitetu mesa zaklanih životinja. U radu će se prikazati pregled najnovijih spoznaja vezanih uz tematiku fizioloških promjena u organizmu tijekom i nakon transporta kao i utjecaj transporta na kvalitetu mesa zaklanih životinja. U tom smislu koristit će se rezultati istraživanja iz dostupnih literaturnih izvora.

2. POJMOVNO ODREĐENJE STRESA

Stres predstavlja promijenjeno stanje organizma nastalo djelovanjem stresora vanjskog ili unutarnjeg porijekla. Svako novo ili neobično iskustvo za životinju može predstavljati stresor, što uzrokuje fiziološke i psihološke promjene u organizmu životinje. Odgovor na djelovanje štetnih podražaja rezultat je zajedničkog djelovanja živčanog i endokrinog sustava, sustava uključenih u primanje, prepoznavanje podražaja i odgovor na te podražaje. Cilj organizma je aktivacijom neurofizioloških mehanizama oduprijeti se djelovanju stresora i spriječiti značajnija oštećenja organizma.

2.1. Neurofiziološka osnova stresa

Receptori odgovorni za primanje podražaja i njihovu transformaciju u živčane impulse raspoređeni su po čitavom organizmu. Primita informacija u obliku impulsa prenosi se do kognitivnih i/ili nekognitivnih centara u središnjem živčanom sustavu (SŽS) gdje se te informacije obrađuju i temeljem njihove obrade vrši odgovor na novonastale uvjete. Stoga kažemo da su SŽS, endokrini i imunološki sustav međusobno povezani te da usklađeno djeluju u odgovoru na štetne podražaja iz okoline. Navedeno ima za posljedicu i promjene u ponašanju životinje (slika 1.).



Slika 1. Veza između središnjeg živčanog sustava (SŽS), endokrinog i imunološkog sustava, CRH – *corticotropin-releasing hormone*

U stanju stresa dio središnjeg živčanog sustava koji se naziva hipotalamus je središnje mjesto koje vrši usklađena reakcija odgovora organizma na djelovanje uzročnika stresa. Pri tome on pojačava aktivnost autonomnog živčanog sustava i to njegovog simpatičkog dijela, luči CRH i potiče lučenje ACTH iz prednjeg režnja hipofize, odgovoran je za sintezu antidiuretičkog hormona (ADH) ili vazopresina i njegovo lučenje iz neurohipofize. Nadalje, u amigdali su smješteni centri odgovorni za emocije (percepcija straha i osjećaj tjeskobe, motivaciju), a u *nucleus accumbens* oni za osjećaj zadovoljstva – ovisnost, „nagrade“ i „kažnjavanja“ (Dembiec i sur., 2004).

Podražaj simpatičkog živčanog sustava događa se u uvjetima kada je potrebna hitna reakcija organizma na potencijalnu ugrozu. Učinci aktivacije simpatičkog živčanog sustava su rezultat njegova djelovanja na ciljne organe i tkiva najčešće posredno putem hormona srži nadbubrežne žlijezde, adrenalina i noradrenalina. U tom posrednom učinku pod utjecajem štetnih podražaja dolazi do aktivacije srži nadbubrežne žlijezde od strane simpatikusa i pojačanog lučenja adrenalina i noradrenalina te njihova učinka na ciljne organe i tkiva. Rezultat je priprema organizma za brze metaboličke promjene i fizičke kretnje kako bi se udaljio od izvora ugroze ili ga savladao. Aktivacija simpatičkog puta odgovora i lučenje adrenalina i noradrenalina ima za posljedicu ubrzani rad srca i veću snagu kontrakcije srčanog mišića, vazodilataciju u aktivnim mišićima i vazokonstrikciju u mišićima koji ne rade, širenje zjenica i bronha, ubrzano disanje, smanjenju aktivnosti probavnog sustava, lipolizu, ubranu glikogenolizu u jetri i nagli porast razine glukoze u krvi. Zajedničko njegovu djelovanju je pripremiti organizam za borbu ili bijeg. Aktivacija simpatičkog živčanog sustava ima katabolički učinak na organizam i odgovoran je za opskrbu kosturnih mišića krvlju bogatom kisikom i hranjivim tvarima. Nadalje, aktivacija simpatikusa i lučenje adrenalina i noradrenalina ima za posljedicu smanjen motilitet i sekreciju u probavnom sustavu (Kundid, 2016).

2.2. Neuroendokrina regulacija odgovora na štetne čimbenike

Endokrine žlijezde koje su uključene u odgovor organizma na djelovanje stresora su hipofiza, nadbubrežna žlijezda te u manjoj mjeri štitna žlijezda. Nadbubrežna žlijezda je žlijezda koja je izravno uključena u odgovor organizma na štetne podražaje. Sastoji se od dvaju odvojenih funkcionalno različitih dijelova, vanjskog dijela ili kore i unutrašnjeg dijela ili srži. Kora je

odgovorna za sintezu i otpuštanje steroidnih hormona: glukokortikoida i mineralokortikoida dok njena srž luči hormone adrenalin i noradrenalin koji se još nazivaju i katekolamini (Nielsen i sur., 2011).

2.2.1. Aktivacija osi Hipotalamus – srž nadbubrežne žlijezde

Hipotalamus je odgovoran za aktivaciju simpatičkih neurona koji završavaju u srži nadbubrežne žlijezde i njihova aktivacija dovodi do lučenje adrenalina i noradrenalina. Pod utjecajem stresnih čimbenika razina adrenalina u krvi može porasti više od 300 puta u odnosu na razinu prije njihova djelovanja (Hartung, 2003).

2.2.2. Aktivacija osi hipotalamus – hipofiza - nadbubrežna žlijezda (HPA)

Os HPA predstavlja niz izravnih utjecaja i povratnih interakcija između hipotalamusa, hipofize i nadbubrežne žlijezde koje imaju za posljedicu promjene u probavnom sustavu, imunološkom sustavu, energetsom metabolizmu, spolnim funkcijama i raspoloženju. Centri u mozgu odgovorni za primanje i prepoznavanje štetnih podražaja šalju impulse i aktiviraju neurone smještene u paraventrikularnim jezgrama hipotalamusa odgovorne za produkciju kortikotropnog relizing hormona (CRH) (Hartung, 2003). CRH ubrzo nakon otpuštanja dopijeva u prednji režanj hipofize gdje potiče sintezu i lučenje adreno-kortikotropnog hormona (ACTH), β -endorfina, β -lipotropina i α -melanocit stimulirajućeg hormona (α -MSH). ACTH potom u nadbubrežnoj žlijezdi aktivira koru i potiče lučenje glukokortikoida (kortizol i kortikosteron) i mineralokortikoida (aldosterona). Lučenje ACTH od srane hipofize pod utjecajem je razine glukokortikoida u krvi (regulacija mehanizmom povratne negativne sprege). Učinak glukokortikoida, kortizola i kortikosterona, očituje se u pojačanoj sintezi glukoze u procesu glukoneogeneze u jetri. Stoga oni pospješuju mobilizaciju bjelančevina (aminokiselina) iz mišića i drugih tkiva (koža, kosti) za glukoneogenezu, ubrzavajući njihovu razgradnju i kočeci njihovu sintezu. U uvjetima njihova dugotrajnog djelovanja navedeno dovodi do postupnog mršavljenja životinja (Padalino i sur., 2015).

Glukokortikoidi su neophodni za normalno funkcioniranje organizma u stanjima gladovanja. Iako je za brzu normalizaciju razine glukoze u krvnoj plazmi, primarno odgovorno naglo otpuštanje glukagona i adrenalina (glikogenolitički hormoni), prethodni učinak kortizola omogućuje stvaranje dovoljnih zaliha glikogena na koje drugi hormoni mogu djelovati. Također kortizol pojačava glikogenolitičko i glukoneogenetsko djelovanje glukagona i

adrenalina. Također u masnom i mišićnom tkivu koći inzulinom potaknuto uzimanje glukoze, te eliminira inhibicijski učinak inzulina na stvaranje glukoze u jetri. Kortizol je nadalje uključen i u procese lipolize odnosno razgradnju masti iz masnih depoa i mobilizaciju masnih kiselina za podmirivanje povećanih potreba na energiji. Također kod dugotrajnog lučenja i povećane razine kortizola (kronični stres), očituje se njegov protuupalni i imunosupresivni učinak (Tateo i sur., 2012).

2.3. Odgovor organizma na podražaj iz okoline

Obzirom na način reakcije na vanjski podražaj postoje dvije skupine životinja. Jednu skupinu čine one životinje koje se same nastoje udaljiti od izvora štetnog podražaja ili ga one nastoje ukloniti. Drugu skupinu čine životinje koje nastoje emocionalno potisnuti učinak štetnog čimbenika (Padalino i sur., 2015).

2.3.1. Manipulacija sa životinjama

Manipulacija sa životinjama je uobičajena metoda koja se koristi u uzgoju životinja. Prilikom toga životinje su izložene brojnim novim, za njih nepoznatim situacijama, uključujući interakciju s ljudima, drugim životinjama, za njih nepoznatom okolinom, zvukovima, različitim zootehničkim zahvatima na životinjama uključujući obuzdavanje i dr.

Fiziološka mjerenja uzeta nakon rukovanja i obuzdavanja mogu biti vrlo promjenjiva, krećući se od gotovo osnovne razine do izuzetno visokih razina promjena. Kada su neke životinje obuzdane, reagiraju s većim promjenama u ponašanju i višim razinama kortizola, glukoze ili laktata. Obuzdavanje za zootehničke zahvate može biti vrlo stresno za jednu životinju, dok za drugu može predstavljati relativno nizak stresni podražaj. Glavni faktor povezan s intenzitetom fiziološkog ili ponašajnog odgovora tijekom rukovanja je prethodno iskustvo. Za pažljivo pripremljenu životinju, usprkos primijenjenoj prisili kod obuzdavanja fiziološki i ponašajni pokazatelji stresa bit će niski (Tateo i sur., 2012). Za drugu životinju koja nema prethodno iskustvo s obuzdavanjem, može reagirati nasilno i fiziološki pokazatelji stresa će biti visoki. Znanstvenici za dobrobit životinja sve više postaju svjesni važnosti pozitivnih i negativnih afektivnih stanja. Afektivno stanje životinje može biti pod utjecajem njezinog prethodnog iskustva s rukovanjem i obuzdavanjem. Pažljivo aklimatizirana životinja vjerojatno će imati pozitivno afektivno stanje i biti motivirana da se ponovo podvrgne nekom

zahvatu ako zna da će za to biti nagrađena (hrana). Druga životinja kod koje su primijenjene grube metode pri rukovanju, poput primjene štapova i sl., bila bi uplašena i imala bi negativno afektivno stanje. Aversivno rukovanje uzrokuje strah i smanjuje proizvodne rezultate (Dembiec i sur., 2004). Pri samom odgovoru važan je i temperament u interakciji s prethodnim iskustvom. Primjerice postupci za privikavanje mladih janjaca na ljude bili su učinkovitiji u sprječavanju nasilnih reakcija tijekom odvajanja od drugih ovaca kada su korišteni na reaktivnijim pasminama. Reaktivnije pasmine goveda i ovaca mogu imati i više razine kortizola i uznemirenije ponašanje nakon rukovanja, transporta ili obuzdavanja. Čak i kada se ne provode bolni kirurški zahvati, način na koji životinja doživljava iskustvo rukovanja i obuzdavanja ima veliki utjecaj na ponašanje i fiziologiju. Fokus će biti na reakciji životinje na rukovanje i neće obuhvaćati odgovore na druge stresore poput bolnih kirurških zahvata, toplinskog stresa ili čimbenika okoliša (Grandin, 1997).

Znanje o sustavima mozga koji utječu na ponašanje tijekom rukovanja i obuzdavanja može pružiti uvid u to kako emocionalni sustavi utječu na ponašanje. U jednoj situaciji strah može imati veliki utjecaj, dok u drugoj situaciji životinja može reagirati na stres zbog odvajanja. Dva emocionalna (afektivna) sustava u mozgu koja bi najvjerojatnije mogla utjecati na fiziološku ili ponašajnu reakciju životinje na manipulaciju su sustav straha i sustav panike (stres zbog odvajanja). Ovi subkortikalni sustavi mozga su mapirani i opisani. Amigdala je centar straha u mozgu. Uništenje amigdale imat će umirujući učinak na štakore i blokirati sposobnost životinje da nauči uvjetovani odgovor straha. Primjer uvjetovanog odgovora straha bila bi životinja koja nauči izbjegavati mjesto gdje je doživjela neugodni podražaj. Kada se amigdala stimulira elektrodama, luče se hormoni stresa poput kortikosterona. Daljnji dokaz da je amigdala centar straha u mozgu je da pacijenti s napadajima koji započinju u amigdali mogu doživjeti osjećaje užasa i aktivirati autonomni živčani sustav. Ove studije jasno pokazuju da mozak ima krugove koji kontroliraju odgovore na strah (Costa, 2009).

Drugi sustav mozga koji se može aktivirati tijekom manipulacije sa životinjama je sustav panike ili stresa zbog odvajanja. *Stria terminalis* u mozgu je uključena u stres zbog odvajanja i može biti posredovana opioidima u mozgu. Ovaj sustav se aktivira kada se majka i mladi odvoje ili kada se jedna životinja odvoji od stada. Kada se goveda, ovce ili druge životinje podvrgavaju rukovanju, često su odvajaju od drugih životinja. Izolacija od članova stada ili

krda često je vrlo stresna za ovce i goveda. Izolirane ovce ili goveda mogu reagirati uznemirenim ponašanjem, povećanim fiziološkim pokazateljima stresa ili povećanim glasanjem. Ova dva sustava mozga mogu biti pod utjecajem genetike. Istraživači su uzgajali zasebne genetske linije životinja s visokim i niskim strahom te visokim i niskim stresom zbog odvajanja. Kod prepelica, istraživači su jasno pokazali da su strah i stres zbog odvajanja zasebne osobine. Strah i stres zbog odvajanja kontroliraju različiti sustavi mozga. Ptice su uzgajane kako bi imale visoku ili nisku razinu straha, dok je druga skupina uzgajana kako bi imala visoku ili nisku razinu stresa zbog odvajanja. Strah se mjerio testom tonusa imobilizacije, a snaga osobine uspostave ponovne društvene interakcije mjerila se testom trake za trčanje. U testu tonusa imobilizacije, perad s visokom razinom straha ostaje nepomična duže vrijeme. U testu trake za trčanje mjeri se koliko će dugo pilić trčati protiv pokretne trake kako bi ostao blizu kaveza s članovima svog jata. Pilići koji više trude ostati blizu svog jata imaju viši stres zbog odvajanja. Stoga naslijeđeni čimbenici mogu utjecati na snagu životinjskog straha ili stresa zbog odvajanja (Broom, 2003).

Iznenadni novi događaj može biti vrlo stresan za životinju. Naslijeđene razlike u strahu ili reakciji na izolaciju također mogu utjecati na intenzitet reakcije životinje. Postoje razlike u reaktivnosti različitih pasmina životinja. Križanci goveda Brahman imali su više razine kortizola nakon rukovanja u usporedbi s drugim govedima. Istraživači su također otkrili razlike u reaktivnosti tri različite pasmine *Bos taurus*: Blond d'Aquitane, Limousin i Angus. Pokazalo se da pasmina ovaca utječe na intenzitet reakcije životinje na izolaciju. Neke pasmine će se češće glasiti od drugih. Tijekom mnogih postupaka rukovanja, životinje su privremeno izolirane od drugih kada su obuzdane za zootehničke zahvate. Druga studija (Bhatt i sur., 2021) sa svinjama pokazala je da je naglo udaranje čizmom bio jedan od najučinkovitijih testova za utvrđivanje razlika u reaktivnosti različitih pasmina svinja. Mlađe životinje mogu imati jaču reakciju nego starije životinje jer su njihovi odgovori manje pod utjecajem učenja ili habituacije. Eksperiment s konjima pokazao je da su mlađi konji imali jači ponašajni odgovor na iznenadno napuhavanje balona u usporedbi sa starijima. Fiziološko mjerenje varijabilnosti srčanog ritma pokazalo je da, iako su stariji konji izgledali ponašajno mirni, mogli su imati povećanu reaktivnost živčanog sustava. Za ljude koji nisu upoznati s varijabilnošću srčanog ritma, to je varijacija u vremenu između uzastopnih otkucaja srca (Bhatt i sur., 2021).

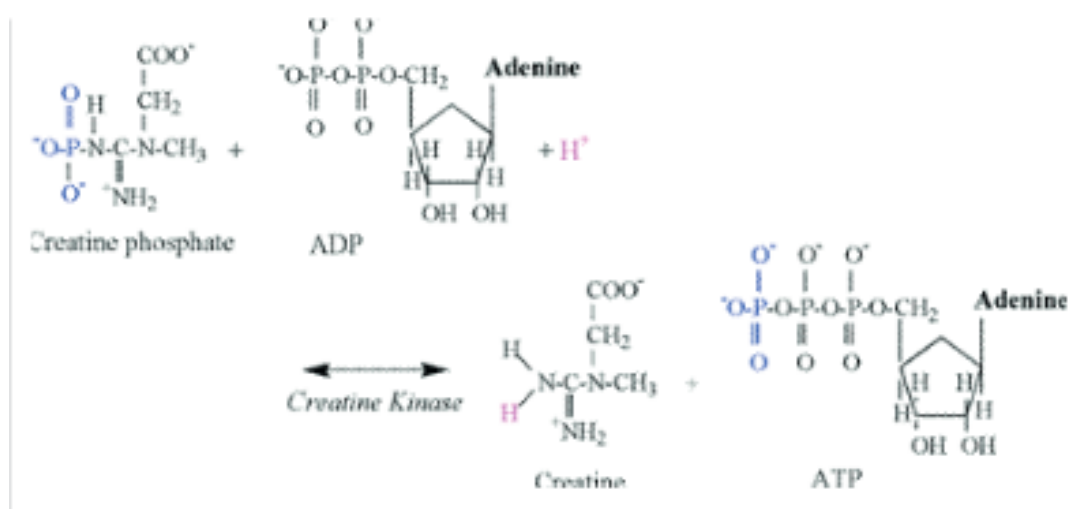
Nadalje, utvrđeno je da su goveda koja su bila vrlo reaktivna na novi podražaj na mjestu gdje su odgojena također imala jače fiziološke odgovore na rukovanje u klaonici. Životinje su najvjerojatnije reagirale na novost okruženja klaonice. Studije su pokazale značajne razlike u odgovorima različitih pasmina goveda. Bikovi za tov različitih pasmina imaju različite reakcije na stres kada se testiraju s testom izlaganja čovjeku i testom novog objekta. Bikovi *Blond d'Aquitaine* bili su najreaktivniji, slijede *Limousin* bikovi, a bikovi *Angus* su bili najmanje reaktivni. Studije su također pokazale da goveda koja brzo trče nakon što su puštena iz ograničenog prostora ili postaju ponašajno uznemirena i bore se tijekom obuzdavanja imaju niže priraste. Goveda *Bos indicus* obično imaju više razine kortizola nakon obuzdavanja i brže izlaze iz ograničenog prostora u uskom hodniku u usporedbi s govedima *Bos taurus*. Temperament je osobina koja je stabilna tijekom vremena i između situacija. Pojedinačna goveda koja su postala vrlo uznemirena u uskom hodniku prvi put kada su bila ograničena u kretanju, nastavila su biti sklonija postati uznemirena kada se ponovo rukovalo s njima u budućnosti. Goveda s manje uzbudljivim temperamentom imala su veću težinu kod odvajanja, bolji prosječni dnevni prirast i poboljšane težine trupova u usporedbi s govedima s uzbudljivim temperamentom. Kako bi poboljšali produktivnost, neki proizvođači namjerno biraju goveda za tov koja ostaju mirna nakon smještaj u ograničeni prostor. Odabir mirnih goveda također poboljšava sigurnost i za ljude (Padalino i sur., 2015).

Druga metoda za procjenu percepcije rukovanja i obuzdavanja od strane životinje je mjerenje spremnosti da se ponovno uđe na mjesto gdje je bila podvrgnuta zahvatima i obuzdavana. Ovo se naziva testom averzije. Ovce imaju dugotrajnu memoriju za negativna iskustva. Godinu dana kasnije mogu biti nevoljne ući u stazu gdje su bile prethodno ograničene u kretanju. Ovo je primjer jedne metode testiranja averzije. Vrijeme potrebno za guranje ovaca kroz stazu do uređaja koji ih obuzdava postajalo je dulje sa svakim uzastopnim pokušajem. Obuzdavanje u uspravnom položaju rezultiralo je manjom averzijom sa svakim uzastopnim pokušajem u usporedbi s obuzdavanjem i prevrtanjem. Vikanje i udaranje je vrlo averzivno za krave. Kada je staza vodila do osobe koja viče, mliječne krave su se kretale sporije kroz nju sljedeći put kada su ušle. Testovi averzije mogu se koristiti za određivanje koje postupke životinje smatraju najreaktivnijima na stresni podražaj (Knowles i sur., 2014).

2.3.2. Fiziološke promjene u organizmu u stanjima stresa

Stanje stresa se može procijeniti usporedbom osnovnih fizioloških pokazatelja kada životinja nije izložena stresnim varijablama s onima kada životinja prolazi kroz stresni događaj. Fiziološki parametri kao što su srčani ritam, tjelesna temperatura, respiratorni ritam i hormonalne promjene mogu se koristiti za procjenu razine stresa. Fiziološke mjere opažene tijekom dugog transporta uključuju: razine kortizola u krvnoj plazmi, srčani ritam, respiratorni ritam, stupanj mišićnog tremora, drhtanje usta, promjene u razini lučenja adrenalina i noradrenalina, razini glukokortikoida u plazmi ili slini, kortikalne razine sline, povećanje/smanjenje tjelesne temperature, fizičke simptome mučnine, razine vazopresina, razine plazma β -endorfina, osmotsku vrijednost krvi, razine plazma β -hidroksibutirata, ponašanje u vezi s hranjenjem ili pijenjem, broj bijelih krvnih stanica, broj crvenih krvnih stanica, aktivnost i učinkovitost limfocita i imunosupresanta. Koncentracije kortizola se najčešće koriste kao pokazatelj stresa, jer se kortizol otpušta kao odgovor na stresne podražaje tijekom aktivacije HPA osi. Kao odgovor na dug transport, povećanje razina kortizola i katekolamina je redovito zabilježena kod životinja (Tateo i sur., 2012).

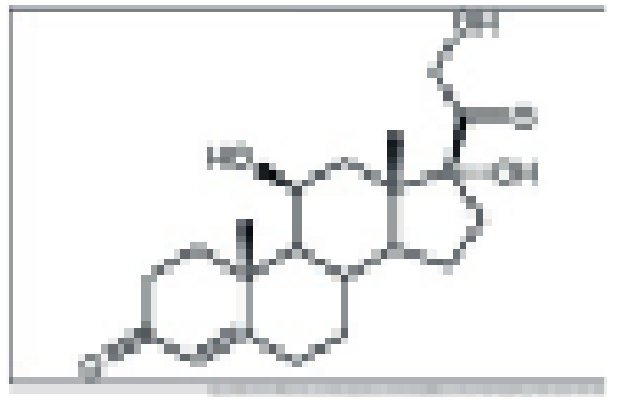
Promjene u koncentraciji specifičnih hormona, enzima, intermedijarnih proizvoda i produkata metabolizma u krvi mogu se pripisati stresu kojem su životinje bile izložene prije klanja. Ove promjene utječu na proces pretvaranja mišića u meso. Među mnogim biokemijskim markerima stresa u krvi, kortizol, mliječna kiselina-laktat i kreatin kinaza (CPK) su posebno značajni.



Slika 2. Strukturni prikaz kreatin kinaze. Ovničević, Lukić, 2013.

Tijelo proizvodi mliječnu kiselinu, poznatu i kao laktat, putem anaerobne glikolize, koja koristi pirogrždanu kiselinu i piruvat bez prisustva kisika. To se događa u skeletnim mišićima kada kapacitet transporta kisika nadmašuje potrebu za energijom. Na taj način se stvara laktat koji krv prenosi do jetre gdje se ponovno pretvara u glukozu putem glukoneogeneze. Stres uzrokuje povećanje koncentracije laktata u krvi.

Steroidni hormon kortizol, također poznat kao hidrokortizon, proizvodi se u nadbubrežnoj žlijezdi i regulira metabolizam proteina, masti i ugljikohidrata. Također doprinosi upali i stresu te ima varijabilne učinke na mnoge tjelesne sustave. Glukokortikoidi su hormoni koji potječu iz nadbubrežne žlijezde, uključujući kortizol, i značajno povećavaju koncentraciju glukoze u krvi. Glavni načini na koje kortizol utječe na metabolizam su povećanje glukoneogeneze u jetri, koja proizvodi glukozu iz aminokiselina i drugih tvari, te smanjenje količine proteina u svim stanicama osim stanica jetre (Ovničevići Lukić, 2013).



Slika 3. Struktura kortizola. Ovničević, Lukić, 2013.

Stres i oslobađanje hormona adrenokortikotropina (ACTH) uzrokuju sekreciju kortizola. Istraživanje je pokazalo da viši nivoi stresa prije klanja povećavaju koncentraciju kortizola u krvi životinja koje su zaklane. Sustav hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda je glavni organ sustav kroz koji tijelo reagira na stres, i ovaj sustav je u fokusu mnogih istraživanja o učincima stresa, promjenama u razinama hormona koje to uzrokuje i učincima tih promjena na različite tjelesne procese (Ovničević i Lukić, 2013).

Sekrecija adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i glukokortikoida kortizola može se brzo povećati u odgovoru na bilo koju vrstu stresa, čak do 20 puta brže nego kada je tijelo u stanju ravnoteže, zbog interakcije hipotalamusa, hipofize i nadbubrežnih žlijezda, kao i živčanog

sustava i drugih podražaja. Ubrzo nakon što je sintetiziran, kortizol se oslobađa u krvotok i putuje do namijenjenih organa gdje utječe na različite metaboličke funkcije (Ovničević i Lukić, 2013).

Poznato je da stres zbog transporta uzrokuje porast razine uree u krvnoj plazmi što ukazuje na povećano razlaganje mišićnih proteina i nukleinskih kiselina zbog povećane koncentracije kortizola i produženog izostanka unosa hrane tijekom transporta. Kreatin kinaza raste proporcionalno s duljinom putovanja i ostaje povišena nekoliko dana nakon transporta, jer se ovaj enzim otpušta u krvotok kada dođe do oštećenja mišića i tijekom intenzivne vježbe; visoke razine ovog enzima u krvnoj plazmi ukazuju na fizičku iscrpljenost. Nadalje, stres zbog transporta aktivira povećanje aktivnosti štitnjače i nadbubrežnih žlijezda, što je vidljivo čak i nakon kratkog transporta, a nastavlja rasti nakon dugotrajnog transporta. Glukoza u krvnoj plazmi jedan je od najčešće korištenih fizioloških pokazatelja stresa tijekom prijevoza. Dokumentirano je da stres zbog transporta uzrokuje porast koncentracija glukoze u krvi zbog pokušaja kompenzacije gubitka energije tijekom transporta, mobilizacije glukoze iz glikogena u jetri i mišićima u sistemsku cirkulaciju, ili smanjenja zaliha glikogena iz skeletnih mišića. Povećanje koncentracije glukoze u krvi uglavnom je zbog glikogenolize povezane s povećanjem lučenja katekolamina i glukokortikoida oslobođenih tijekom dugotrajnog stresa zbog transporta. Primijećeno je da se koncentracija ukupnih proteina u plazmi, albumina i hemoglobina povećava kada životinje pate od dehidracije kao rezultat dugotrajnog transporta. Promjene u metabolizmu minerala tijekom transporta goveda prvenstveno uključuju kalcij, magnezij, natrij, kalij i klorid. Povećanje mišićne aktivnosti kod goveda izloženih transportnom stresu rezultat je povećanja koncentracije kalcijevih iona u izvanstaničnoj tekućini (Vogel i sur., 2019).

Razni su stresni čimbenici kojima su životinje izložene prilikom transporta uključujući utovar i istovar, nepravilno rukovanje, nesigurnu vožnju, loše cestovne uvjete, previše toplu ili prehladnu okolinu, neadekvatnu ventilaciju, visoke gustoće skladištenja, miješanje nepoznatih skupina, nedostatak vode i hrane, buka, kretanje vozila i duljina putovanja. Duljina putovanja ima veći učinak nego udaljenost. Nadalje, kontrola prijevoza, buka, vibracije, novost, socijalno grupiranje, gužva i razni okolišni čimbenici (temperatura, vlaga i plinovi) mogu predstavljati stresor za životinju. Nadalje, neadekvatna cestovna vozila, nepoštivanje vremenskih ograničenja putovanja, zanemarivanje i nepravilno rukovanje

stokom, transport neprimjerenih kategorija stoke, nedovoljna ventilacija, stavovi dionika i vještine vozača; genetske varijacije između pasmina i različiti selekcijski pritisci; arhitektura vozila za prijevoz; dizajn opreme za utovar; plaćanje ljudi koji rade sa životinjama; načini utovara i istovara su potencijalno stresni čimbenici za životinju (Padalino i sur., 2015).

Primjerice životinja gubi težinu kada je uskraćena za hranu i vodu, a procijenjena stopa gubitka je oko 12% početne težine životinje. Gubitak težine vjerojatno je najvažniji ekonomski učinak jer se trgovanje životinjama temelji na težini. Većina gubitaka događa se tijekom prvih 24 sata uskraćivanja, s najvišom stopom tijekom prvih 12 sati. Uskraćivanje hrane i vode tijekom transporta glavni je čimbenik koji uzrokuje gubitak težine. Tijekom transporta stope smrtnosti variraju s obzirom na dob i vrstu životinja, pri čemu su najosjetljivije mlade krmače, krmače i nerasti, a slijede tovne svinje, mliječne krave i telad, dok je najveća otpornost zabilježena kod tovnih goveda. Smrtnost odraslih goveda tijekom cestovnog transporta povećava se s duljinom putovanja: šestostruko povećanje smrtnosti tovnih goveda i petnaestostruko povećanje smrtnosti tovnih goveda za duga putovanja dulja od 300 km u odnosu na kratka putovanja kraća od 50 km. Nadalje, sezona utječe na povećani rizik od smrtnosti povezanom s transportom. Duljina putovanja potvrđena je kao najvažniji čimbenik rizika u razvoju bolesti povezanih s transportom i smrtnosti (Knowles i sur., 2014).

Tjelesna temperatura, ritam rada srca i disanja obično se povećavaju. Aktivira se hipofizno-adrenalna os, uz povezano povećanje razine kortizola, glukoze i slobodnih masnih kiselina u cirkulaciji. Razine mišićnih enzima u krvi rastu, što znači da dolazi do naprezanja mišića, a imunološki sustav je oslabljen. Broj bijelih krvnih stanica i neutrofila raste, a broj limfocita, eozinofila i monocita opada. Aktivnosti transporta povezane su sa smanjenjem broja perifernih cirkulirajućih limfocita kod životinja. U jednoj studiji (Hails, 1978) provedeno je uzimanje limfocita kod bikova pasmine Holstein-Friesian nakon transporta, i stimulirani su konkanavalinom A, pri čemu je došlo do smanjenja proizvodnje IFN γ , što sugerira smanjenje imunološke funkcije. Nakon transporta, imunosupresivni učinak predisponira telad za stjecanje goveđe respiratorne bolesti (BRD), koja se obično javlja tijekom prvih 45 dana po dolasku i povezana je s 65-80% morbiditeta i 35-55% smrtnosti (Honkavaara i sur., 2003).

Također je pokazano da stres uzrokovan nehumanim transportom životinja za hranu smanjuje kvalitetu mesa proizvedenog od tih životinja, što rezultira opskrbom potrošača

mesom loše kvalitete. Transport primarno utječe na konzistentnost trupova u smislu razine modrica. Također je utvrđeno da više modrica potječe s aukcijskih tržišta među stokom za klanje, a također je utvrđeno da se stupanj modrica povećava s prijednom udaljenošću i vremenom provedenim u ležištu. U studiji provedeno na janjcima, pokazano je da meso janjaca transportiranih po neasfaltiranim cestama ima viši krajnji pH, veću nježnost i karakteristike tamnog rezanja, s tamnijom bojom, nego janjci transportirani po asfaltiranim cestama (Hails, 1978).

Pred-miješanje goveda ili svinja vodi do veće međusobne povezanosti i životinje bolje podnose putovanje nego kada su međusobno nepoznate. Goveda treba miješati 24 sata prije utovara u boks. Tijekom tog vremena, viktimizirane životinje mogu se izdvojiti. Borba među nepoznatim svinjama je česta, što dovodi do oštećenja kože, rana i stresa. Noge se ne smiju vezati, a životinje treba rotirati svakih 30 minuta. Svinje ne smiju putovati s drugim životinjama osim ako nisu odvojene pregradom. Bikove ne treba prevoziti zajedno s drugom stokom, osim ako nisu odvojeni jakom pregradom. Životinje koje su bolesne, ranjene ili iscrpljene ne treba prevoziti; životinje hranjene u boksu ne bi trebale putovati predaleko jer ne mogu izdržati napore transporta. Vozila bi trebala imati prijenosnu rampu za hitno istovarivanje u slučaju dugotrajnih kvarova (Costa, 2009).

Pravilno dizajnirani objekti za rukovanje životinjama, u kombinaciji s dobro obučanim rukovateljima koji su upoznati s tehnikama niskog stresa pri rukovanju, mogu značajno smanjiti stres koji životinje doživljavaju prilikom utovara ili istovara, kao i u drugim fazama cjelokupnog procesa sortiranja, stavljanja u boksove, obrade i transporta. Svako vozilo koje se koristi za prijevoz stoke treba imati odgovarajuću ventilaciju, pod s adekvatnim drenažnim sustavom i zaštitu od sunca i kiše, posebno za svinje. Bočne površine trebaju biti glatke, bez izbočina ili oštih rubova. Nijedno vozilo ne smije biti potpuno ograđeno. Stranice vozila trebaju biti dovoljno visoke kako bi se spriječilo da životinje ispadaju i ozljeđuju se, posebno svinje. Učinkovita izmjena topline, koja se postiže regulacijom toplinskog opterećenja odgovarajućim ventilacijskim tehnikama, potrebna je za optimalne termalne uvjete u vozilu. Brojleri i druga perad, poput purana ili pataka, bolje se prevoze cestom. Jata ptica mogu se podijeliti u kaveze u ograničenom broju. Preporučuju se plastični sanduci koji se mogu slagati jedan na drugi u vozilu i koji se brzo mogu oprati nakon upotrebe (Grandin, 1997). Visoke

temperature okoline tijekom transporta mogu povećati rizik od toplotnog stresa i smrtnosti. Važno je prevoziti životinje tijekom hladnijih jutarnjih i večernjih sati ili čak noću. To je posebno važno za svinje (Costa, 2009).

Dob, iskustvo, razina prehranbene deficijencije, zdravstveno stanje životinja i kondicija mogu utjecati na dobrobit tijekom dugih putovanja. Ipak, stoka koja se prevozi zbog bolesti može biti manje pogodna za dug transport nego zdrave životinje iz stada, jer transport može izazvati, povećati ili produžiti nelagodu i druge oblike patnje povezane s bolešću. Slično, određene vrste stoke kao što su izlučene kokoši nesilice ili izlučene krmače i krave vjerojatno su manje pogodne za transport bilo kojeg trajanja na kraju svog proizvodnog vijeka nego mlađa stoka namijenjena za klanje. Utvrđeno je da prethodna izloženost transportu teladi poboljšava njihovu sposobnost izdržavanja stresa tijekom transporta i rukovanja (Grandin, Shivley, 2015).

Pružanje pristupa hrani i možda još važnije vodi jedan je od glavnih izazova tijekom dugotrajnog transporta životinja. Ovce su otpornije na nestašicu hrane i vode nego većina druge stoke, dok su konji osjetljivi na pretjeranu glad i izgladnjivanje tijekom dugih putovanja, jer nerado piju tijekom putovanja i iz nepoznatih izvora. Tek odbijene svinje vjerojatno neće imati koristi od dugih stanki na putovanju, jer još nisu navikle jesti čvrstu hranu i piti vodu. Inovativni načini osiguravanja dostupnosti hrane i vode u transportnom vozilu se razvijaju tako da se stanke mogu ostvariti jednostavnim zaustavljanjem vozila u zaklonjenom području na određeno vrijeme, omogućujući mogućnost hranjenja i pijenja, kao i odgovarajućeg odmora (Knowles i sur., 2014). Goveda trebaju ležeći odmor, ali rijetko leže dok su u vozilu, dok ovce, svinje i perad leže tijekom transporta. Učinkovitost vožnje i različiti aspekti dizajna vozila kao što je apsorpcija udara utječu na udobnost životinja tijekom transporta (Nielsen i sur., 2011).

Davanje elektrolita životinjama prije transporta može rezultirati smanjenjem promjena osmotskog tlaka tjelesnih tekućina kod životinja izloženih transportu. Međutim, nepravilna primjena elektrolitnih tretmana može biti kontraproduktivna, što rezultira iscrpljenjem zaliha kalija u organizmu i pojavom proljeva. Gubitak energije ili hipoglikemija jedan je od tipičnih učinaka transporta i rukovanja sa životinjama. Stoga se nastoji ovo stanje ublažiti primjenom elektrolitne terapije i visokokalorične dijetae prije ili nakon transporta. Dodaci prehrani u

obliku energije prije transporta rezultiraju povećanjem težine toplih trupova kada se goveda šalju na tržište. Ova metoda pokazala se uspješnom kako u upravljanju učinkovitosti životinja u tovilištima, tako i u regulaciji kvalitete mesa i prinosa trupova (Rioja – Lang i sur., 2019). Nadalje, vitamin C je prirodni antioksidans koji pomaže smanjiti količinu slobodnih radikala u tijelu i time sprječava negativne učinke na tijelo. Vitamin C smanjuje razinu radikala koji nastaju kao rezultat stresa tijekom transporta. Vitamin E također smanjuje morbiditet i stres kod transportiranih životinja. Dodaci kroma smanjuju morbiditet i povećavaju prosječni dnevni prirast težine (Vogel i sur., 2019).

3. TRANSPORTNI STRES

Tehnološki i transportni stres najčešće su vrste stresa s kojima se danas suočava stočarska industrija. Tehnološki stres može se smanjiti, izbjeći ili čak potpuno eliminirati, ali transportni stres ostaje nepovoljan i ključan problem u sve većoj i rastućoj stočarskoj industriji širom svijeta. Stres uzrokovan cestovnim prijevozom ili „bolest ceste“ je stečeni stres kod životinja tijekom prijevoza cestom kada se krše pravila i propisi koji definiraju uvjete neophodne za zadovoljenja potreba životinja tijekom transporta. To uključuje nedostatak odgovarajuće pripreme prije puta, utjecaj nepovoljnih klimatskih čimbenika i probleme vezane uz upravljanje tijekom procesa prijevoza. Simptomi stresa uzrokovanog cestovnim prijevozom gotovo su isti, bez obzira na vrstu životinje koja se prevozi (Knowles i sur., 2014). Međutim, visoko produktivne, gravidne i mlade životinje pate više od stresa tijekom cestovnog prijevoza nego druge. Uvjeti cestovnog prijevoza poznato je da utječu na fiziološke reakcije životinja bilo zbog psihološkog stresa ili fizičkog umora. Uzroci stresa uzrokovanog cestovnim prijevozom klasificiraju se na uzroke prije prijevoza (uključuju nedostatak odgovarajuće pripreme prije prijevoza), uzroke tijekom prijevoza (uzroci stresa tijekom putovanja uključuju udaljenost i trajanje prijevoza, klimatske čimbenike i promjene u uobičajenoj dnevnoj rutini, prirodu ceste i brzinu vozila) te uzroke nakon prijevoza (grubo iskrcavanje životinja iz prijevoznog vozila, loša rampa za iskrcaj, nedostatak odgovarajuće hrane, vode i odmora u stajama nakon prijevoza te nedostatak post-transportnog liječenja; Hartung, 2003).

Svake godine, iz Europske unije se izvozi 4,5 milijuna goveda, svinja, ovaca i koza u treće zemlje. Glavno sredstvo transporta za ovce i goveda je more, a njihova odredišta uključuju Libiju, Jordan, Saudijsku Arabiju, Liban, Egipat, Eritreju, Alžir, Gruziju i druge zemlje. Transport životinja morem predstavlja iznimno okrutnu i mučnu praksu, koja često uključuje dugotrajne putove, loše uvjete smještaja i neprikladne klimatske uvjete. Životinje su podložne stresu i patnji tijekom transporta, gdje su često izložene prenatrpanosti, nedostatku hrane i vode, kao i ekstremnim temperaturama. Ovakvi uvjeti mogu uzrokovati ozbiljne fiziološke i psihološke posljedice, uključujući povrede, dehidraciju i smanjenje imunološkog sustava (Hartung, 2003).

Glavni čimbenici koji određuju dobrobit farmskih životinja u cestovnom prijevozu su dizajn vozila, gustoća stoke, ventilacija, standard vožnje i kvaliteta ceste. Prijevoz životinja

korištenjem vozila koja nisu specifično dizajnirana za tu svrhu dovodi do ozljeda, stresa i patnje kod životinja. Stoga bi trebalo izbjegavati vozila poput otvorenih prikolica, kamiona, kipera, terenskih vozila, autobusa i drugih vozila s loše dizajniranom rampom ili vrlo uskim vratima s nepotrebnim izbočinama, koja su prvenstveno dizajnirana za prijevoz robe, a koja su neprikladna za prijevoz životinja (Knowles i sur., 2014).

Unatoč raznim modifikacijama transportnih vozila i standardnoj brzini putovanja prilagođenoj uvjetima i na cesti i ograničenjima, ostaje očito da se stres uzrokovan vozilom i gustoćom stoke u vozilu ne može potpuno eliminirati. To je zato što tijekom putovanja kroz oštre zavoje i uspon ili silazak niz brda, nesputane životinje unutar vozila često posrću s jedne strane vozila na drugu. Takve životinje često su stisnute uz strane vozila i ponekad padaju. Svi ti čimbenici kompromitiraju dobrobit životinja (Hartung, 2003).

Iznenadni utovar i zatvaranje životinja, osobito onih koje se uglavnom uzgajaju u tradicionalnim ekstenzivnim sustavima uzgoja je za njih neobičan postupak. Ovo za njih predstavlja prekid u dinamičkom stereotipu životinja, često praćen prekomjernom bukom, tjeranjem štapom ili palicom, guranjem i udaranjem životinja. Drugi stresni čimbenici koji djeluju na životinje neposredno prije prijevoza uključuju pritisak užadi koja se koriste za vezanje životinja, neprimjerenu podlogu kojom se životinje tjeraju, dugotrajno stajanje životinja dok čekaju vozilo ili njegov polazak. Svi ti štetni čimbenici koji djeluju istodobno čine putovanje od samog početka vrlo stresnim za životinje (Padalino i sur., 2015).

Tijekom prijevoza kokoši, pokazano je da grubo rukovanje, kada su kokoši bile uklonjene iz baterijskih kaveza u vozila, ima mnogo veći učinak nego nježno rukovanje ili kratko razdoblje prijevoza. Tijekom cestovnog prijevoza koza, uočeno je da je najveći stres bio uzrokovan rukovanjem na početku putovanja, što je prvo aktiviralo simpatički živčani sustav, uključujući nadbubrežnu medulu i konačno nadbubrežnu koru (Nielsen i sur., 2011).

Još jedan pokazatelj problema dobrobiti tijekom rukovanja, utovara i istovara je kvaliteta kože i mesa nakon klanja. Biokemijske promjene u mišićima, osobito u metabolizmu glikogena, pod utjecajem su reakcija životinja na različite uvjete rukovanja prije klanja. U svinja i goveda takvi uvjeti uzrokovali su da meso bude blijedo, mekano i vodenasto (BMV) ili tamno čvrsto i suho meso (TČS). I BMV i TČS meso uzrokuju znatne ekonomske gubitke (Grandin, 1997).

Vrijednost hematokrita može se povećati uslijed dehidracije ili kontrakcijom slezene izazvanom aktivnošću simpatičkog živčanog sustava odnosno cirkulirajućim katekolaminima. Uočeno je da vrijednost hematokrita raste tijekom rukovanja i utovara životinja, dok se njegova vrijednost smanjuje kod životinja podvrgnutih istovaru i mirovanju (Grandin i Shivley, 2015).

Promjene u metabolizmu minerala izazvane prilagodbom izvornoj hormonskoj ravnoteži kao rezultat čimbenika stresa iz okoliša tijekom transporta životinja uključuju promjene u koncentraciji kalcija, magnezija, natrija, kalija i klorida. U stanju stresa, koncentracija kalcija u međustaničnim tekućinama također se povećava zbog visoke proizvodnje katekolamina, što utječe na potencijal stanične membrane. Povećanje kalcija u izvanstaničnim tekućinama dovodi do znatnog pojačanja kontraktilnosti mišićnih stanica, uključujući srčane mišićne stanice. Natrij i kalcij imaju zajedničko svojstvo; sudjeluju u povećanju aktivnosti skeletnih i srčanih mišića. Kalcijevi ioni također sudjeluju u oslobađanju acetilkolina i prijenosu živčanih impulsa do funkcionalnih tkiva poput mišića. Stoga, povećana aktivnost mišića kod životinja pod utjecajem stresa rezultat je povećanja koncentracije kalcijevih iona u izvanstaničnoj tekućini (Hails, 1978).

Međutim, u analizi acidobazne ravnoteže kod goveda *B. indicus* podvrgnutih dugotrajnom transportu, nije uočeno značajna promjena koncentracije kalcijevih i fosfatnih iona. No u slučaju uskraćivanja hrane zabilježena je tendencija povećanja koncentracije fosfatnih iona u plazmi. Nadalje, koncentracija fosfatnih iona u plazmi je viša kod životinja koje su gladovale i bile transportirane 32 sata. Koncentracija magnezija u tjelesnim tkivima opada tijekom transporta, što dovodi do promjene aktivnosti mitohondrijske membrane. Nedostatak magnezija ozbiljno utječe na razmjenu energije u skeletnim i srčanim mišićima. Stres zajedno s nedostatkom magnezija uzrokuje povećanu sintezu i oslobađanje katekolamina, što rezultira povećanjem stanične propusnosti (Fazio, Ferlazzo, 2003).

Pokazalo se da transport teladi starih 60 dana rezultira značajno nižom koncentracijom Mg i Fe te nižom koncentracijom Ca i P u krvi. Tijekom transporta divljih konja, koncentracija Na i Cl značajno se povećava, iako vrijednosti ostaju unutar utvrđenih granica za konje. Slično, koncentracije Ca, Na, Cl i P u plazmi ostaju unutar normalnih vrijednosti kod transportiranih goveda, teladi i junadi. Međutim, vrijednost K se smanjuje ispod normalne. Smanjenje može

biti posljedica činjenice da stres inducira aktivaciju hipotalamo-hipofizno-adrenalne osi i potiče lučenje kortizola, što rezultira izlučivanjem K (Dembiec i sur., 2004).

Magnezij (Mg) djeluje kao kofaktor ili aktivator mnogih kritičnih enzima za reakcije koje uključuju ATP, koji pokreće sve glavne metaboličke puteve. Također, magnezij djeluje kao sedativ koji smanjuje lučenje katekolamina izazvano stresom i inhibira razgradnju glikogena.

Ponašanje životinja tijekom transporta je glavna briga zagovornika dobrobiti životinja. Ponašajni stres kod životinja, izražen kao pokazatelj nelagode tijekom transporta, uključuje smrzavanje, povlačenje, pokušaj bijega, vokalizaciju, udaranje ili borbu (Fazio, Ferlazzo, 2003).

Tijekom transporta peradi, uključujući nojeve, otvaranje kljuna, lepršanje krilima, nemir, kljucanje i često eliminiranje opaženi su kao pokazatelji ponašajnog stresa, posebno ako se transport provodi tijekom vruće suhe sezone godine. Uzbuđenost životinja ovisi o njihovom temperamentu. Nažalost, temperament životinja je osobina koja se čini stabilnom tijekom vremena. Ponavljano rukovanje agresivnim životinjama ne čini se da utječe na njihovu agresivnost; štoviše, što se više rukuje s njima, postaju agresivnije. Isto vrijedi i za mirne životinje, što se više rukuje s njima, postaju mirnije (Costa, 2009).

Uspon novog hijerarhijskog reda u novom okruženju u kojem se životinje nalaze tijekom transporta pogoršava njihove ponašajne obrasce. To je zato što snažne životinje, osobito mužjaci, pokušavaju zauzeti najbolja mjesta u vozilu, što dovodi do agresije i borbe. Također je utvrđeno da veličina rogova i pasmina igraju veliku ulogu u uspostavljanju hijerarhijskog reda među životinjama zatvorenima na jednom mjestu. Životinje s dugim i masivnim rogovima imaju tendenciju dominirati boljim mjestima i stalno ih brane stvarajući nered drugim životinjama. Ženke pate više od agresije, osobito tijekom perioda parenja. Transport životinja iz različitih izvora u visokoj gustoći s malo ili nimalo prostora za uspostavljanje socijalnog reda tijekom transporta dodatno pogoršava učestalost borbi i vokalizacije. To dovodi do teškog stresa kod podređenih životinja koje nastavljaju živjeti u stanju alarma, napetosti i anksioznosti (Broom, 2003).

Istraživanja su pokazala da životinje podvrgnute stresu cestovnog transporta provode većinu vremena ležeći tijekom i neposredno nakon putovanja. Čin mokrenja i defekacije povećava se u prvom satu putovanja, nakon čega opada. Ponašajne promjene često su prvi znak bolesti i

glavni znak stresa. Količina stresa koju životinja trpi tijekom procesa transporta i način interpretacije i ocjenjivanja takvih mjerenja teško je interpretirati. Nedavno su predložene metode koje objektivno ocjenjuju stres nametnut životinjama tijekom rukovanja, utovara, transporta i istovara. Ove metode mogu se učinkovito koristiti za procjenu dobrobiti transportiranih goveda čak i prije njihovog transporta ili kraja putovanja. Stoga je važno da stočari i oni koji sudjeluju u transportu životinja pažljivo promatraju ponašanje životinja kako bi se svaka abnormalnost mogla rano otkriti i poduzeti korektivne mjere kako bi se spasio život životinje (Broom, 2003).

Mjerenja ozljeda, modrica, smrtnosti, morbiditeta i kvalitete trupova često se koriste kao pokazatelji dobrobiti tijekom rukovanja i transporta životinja. Zapisi o smrtnosti pružaju informacije o dobrobiti tijekom putovanja, dok modrice, ogrebotine, mrlje, slomljene kosti te incidencije PSE/DFD svinjetine i tamnog mesa govedine ili janjetine pružaju informacije o dobrobiti životinja tijekom rukovanja, transporta i pripreme za klanje. Samo rukovanje, utovar, transport i istovar životinja povezani su s različitim vrstama ozljeda koje životinja trpi kao rezultat propadanja normalnih postupaka transporta od strane stočara i prijevoznika. Korištenje starih i neadekvatnih vozila, grube vožnje po lošim cestama, transportiranje životinja različitih vrsta i dobi u jednom vozilu pogoršava incidenciju ozljeda, pogotovo ako životinje imaju dugačke rogove. Primijećeno je da su najveći postoci ozljeda koje su pretrpjela transportirana goveda bili posljedica udaranja rogovima ili su nastali uslijed pogrešnog rukovanja stočara (Bhatt i sur., 2021). Rane, kontuzije i poderotine najčešće su ozljede koje trpe goveda, a prsni i trbušni zid najčešće su područja tijela zahvaćena ozljedama. Nadalje, primijećeno je da udaranje životinja od strane stočara i gruba vožnja povećava ozljede kod transportiranih životinja. Postotak ozljeda uočen je da raste s trajanjem putovanja, što ukazuje na kontinuirani i produljeni utjecaj uvjeta transporta na životinju. Međutim, drugo istraživanje je primijetilo da su ozljede češće u kratkim putovanjima (6 sati), dok tijekom dugih putovanja životinje pokazuju izražene znakove prilagodbe (Bhatt i sur., 2021). Životinje uzgojene u tradicionalnom ekstenzivnom sustavu smatraju se robusnijima i dobro prilagođenim stresnim uvjetima, uključujući cestovni transport (Nielsen i sur., 2011).

Stres uslijed transporta uzrokuje i promjene u imunološkom sustavu. Osjetljivost na bolesti se značajno povećava uslijed supresije stanične i humoralne imunosti. Kao posljedica toga, virulentnost patogenih mikroorganizama kao što su *Escherichia coli*, *Pasteurella sp.* i *Salmonella sp.* povećava se. Morbiditet uslijed respiratornih i probavnih bolesti kod takvih životinja raste. Bolesti koje se obično povezuju s transportnim stresom su enzootska bronhopneumonija kod goveda, vrbanac kod svinja, proljev kod prasadi i teladi (Nielsen i sur., 2011).

Gleda preporuka za vrijeme trajanja transporta sugerira se da on bude što kraći, na što manje udaljenosti te da to ne iznosi više od 8 sati ili da ta udaljenost ne iznosi više od 250 km. Pri tome sredstva prijevoza trebaju imati mehaničku ventilaciju, a unutarnja temperatura ne smije pasti ispod 5°C niti premašiti 30°C (Hails, 1978).

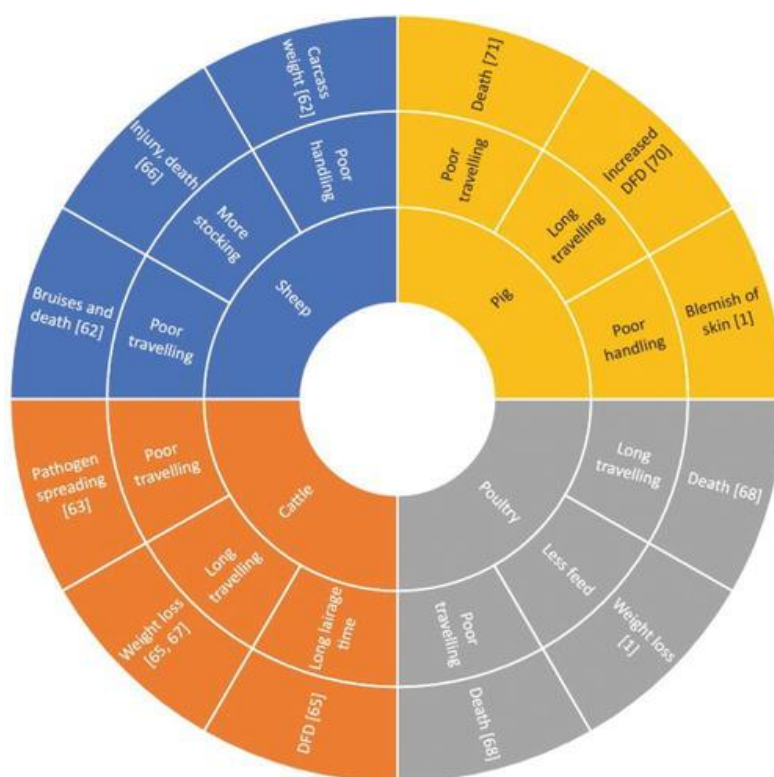
Buka uzrokuje uzbuđenje živčanog sustava, što dovodi do disfunkcije normalnih fizioloških procesa u životinji. Normalna količina buke koju životinja može percipirati bez ikakve disfunkcije kreće se između 30 - 55 dB (akustična norma). Međutim, goveda su osjetljivija na buku od ljudi, a slušna osjetljivost goveda i ovaca najveća je između 7000 i 8000 Hz. Ovce su vidljivo prestrašene lavežom pasa i bukom od vozila koja ih prevoze. Goveda, ovce i svinje sposobne su percipirati više frekvencije zvukova od ljudi, te je moguće da se životinje prestraše zvukovima koji nisu čujni za čovjeka (Padalino i sur., 2015).

Tijekom cestovnog transporta životinja, buka može nastati iz različitih izvora poput ljudskih glasova, upotrebe bičeva, bučne opreme, grmljavine, laveža pasa, kočnica s komprimiranim zrakom na vozilima, alarmnih zvona i vozila. Uporaba vozila koje nije namijenjeno specifično za transport životinja, neumjesna uporaba prisile na životinjama tijekom utovara i istovara, osobito kad se na životinje viče, loša kvaliteta motora vozila, nepotrebna zaustavljanja, osobito gdje su mnoge prikolice parkirane s upaljenim motorima, dodatno pogoršavaju stanje životinje koja je već pod stresom. Intenzivna buka iz mnogih izvora utječe na cirkulaciju krvi transportirane životinje i uzrokuje porast sedimentacije eritrocita, disfunkciju endokrinih organa i kardiovaskularne bolesti tijekom perioda transporta (Knowles i sur., 2014).

Prikazani su i učinci vibracija vozila korištenih u transportu, kada je motor vozila upaljen ili je vozilo u pokretu, što uzrokuje ozbiljnu nelagodu životinjama i vodi do iscrpljivanja glikogena pohranjenog u tijelu, a posljedično i umora u transportiranih životinja i ptica.

4. TRANSPORTNI STRES I KVALITETA MESA

Kod goveda, ovaca i svinja, visok pH rezultira tamnijim mesom, dok nizak pH rezultira svjetlijim mesom. Ovo vrijedi i za normalne životinje i za one osjetljive na stres. Na pH utječe razgradnja glikogena u mliječnu kiselinu (u metaboličkom putu koji proizvodi energiju), a brzina metabolizma glikogena ovisi o trenutnom i dugoročnom stresu te individualnim razlikama između životinja. Bilo koja vrsta fizičkog stresa može rezultirati iscrpljenjem zaliha glikogena, dok psihološki stresori uzrokuju brzu razgradnju glikogena potaknutu izlučivanjem epinefrina. pH raste kada se zalihe glikogena iscrpe zbog produženog stresa i mliječna kiselina se više ne može proizvoditi. Da bi se proizvelo meso tamne boje kod goveda, životinje moraju biti pod produženim stresom više od osam sati, dok se svijetlo meso proizvodi razgradnjom glikogena neposredno prije klanja. Mliječna kiselina proizvedena razgradnjom glikogena važna je za određivanje konačnog pH mesa. Brzina uklanjanja mliječne kiseline iz mišića čini se smanjenom kod svinja s nasljednom osjetljivošću na stres (Honkavaara i sur., 2003).



Slika 4. Postupanje sa životinjama prije klanja i njegovi učinci na kvalitetu mesa i trupova.

Svinje koje su dugo putovale kamionom imat će niže razine glikogena od odmorenih svinja, a svinje prevezene na kratku udaljenost imale su više BMV mesa nego svinje prevezene na dugu udaljenost. Međutim, svinje na dugim relacijama vjerojatno će patiti od većeg smanjenja težine i gubitaka zbog smrti, a produženi stres može čak uzrokovati tamno, čvrsto i suho (TČS) meso koje je nepoželjno. Nedavne studije pokazuju da se incidencija BMV mesa može smanjiti odmaranjem svinja 6-8 sati prije klanja, što se čini u suprotnosti s rezultatima koji pokazuju da su svinje prevezene na kratke udaljenosti imale više BMV mesa. Ova kontradikcija mogla bi se objasniti problemima usporedbe studija s različitim varijablama kao što su vrijeme transporta, količina borbi i dizajn skladišta (Rioja – Lang i sur., 2019).

Uz to, razlike u načinu rukovanja životinjama mogu utjecati na boju mesa. Na primjer, stres osjetljive životinje koje su blago izložene stresu 12-15 sati imat će tamno, čvrsto meso. Ako su te iste životinje blago izložene stresu 7-8 sati, imat će normalno meso. Stoga varijable koje treba uspoređivati između različitih studija uključuju spol, pasminu, težinu, vremenske uvjete, duljinu transporta, vrijeme odmora prije klanja, broj životinja u svakom prostoru, oblik prostora, metodu omamljivanja, pristup hrani i vodi te miješanje nepoznatih životinja (Tateo i sur., 2012).

Što su životinje dulje u transportu, to je veća vjerojatnost da će imati visok mišićni pH i tamno meso. Ovo vrijedi za sve vrste i u skladu je s nalazima da svinje koje su prošle kroz aukcijska tržišta imaju višu incidenciju TČS mesa nego svinje prevezene izravno s farme. Druge nedavne studije pokazuju da svinje koje su zaklane odmah po dolasku ili ubrzo nakon toga imaju niži mišićni pH i više BMV mesa nego svinje koje su držane u oboru preko noći (Hails, 1978).

Hranjenjem svinja i goveda šećerom može se smanjiti incidencija TČS mesa i broj tamnih rezova kod umornih životinja. Davanje svinjama šećerne vode nakon dolaska u klaonicu poboljšava postotak iskorištenja trupa. Eksperimentiranje s izotoničnom otopinom za životinje u klaonicama pokazuje da se postotak iskorištenja poboljšava za 0,5-2% i smanjuje se rizik od pojave tamne boje mesa (Hails, 1978). Stres neposredno prije klanja obično smanjuje pH i povećava incidenciju BMV mesa. Injekcije epinefrina 5 minuta prije klanja povećale su incidenciju BMV mesa. Nekoliko studija pokazuje da svinje koje se drže i hrane prije klanja imaju više BMV mesa nego životinje koje se odmah prevoze do klaonice i kolju.

Uzbuđenje i stres neposredno prije klanja obično čine govedinu, janjetinu i teletinu tvrdima. Stres vješanja i podizanja živih teladi ili ovaca smanjuje nježnost mesa, dok imobilizacija životinje u uspravnom položaju proizvodi ujednačeniji mesni proizvod. Drugi psihološki i fizički stresori koji mogu smanjiti kvalitetu mesa uključuju visoke temperature, uzbuđenje i čestu upotrebu električnih stimulatora. Na primjer, svinje vođene do omamljivanja kožnim bičevima imale su manje krvavih šunki nego one vođene električnim stimulatorima. Također, junad stimulirani električnim stimulatorima svakih 20 minuta tijekom 24 sata prije klanja imali su tvrđe odreske od rebara i smanjen okus mesa. Meso odmorenih janjaca je mekše, a svinje izložene temperaturi od 114°F tijekom 20-60 minuta prije klanja imale su tvrđe meso od kontrolnih životinja. Toplinski stres i borba prije i tijekom klanja otežavaju meso purana (Vogel i sur., 2019). Nadalje, utvrđeno je da električno omamljivanje potiče oslobađanje epinefrina, ali ima efekt omekšavanja mesa (Tateo i sur., 2012).

Tijekom posljednje dvije ili tri godine mnoge klaonice goveda instalirale su uređaj za poboljšanje nježnosti mesa. Nakon uklanjanja kože, električna struja prolazi kroz oguljenu trup. Ovaj proces električnog omekšavanja mesa prvi su razvili Harsham i Deatherage. Mnogo istraživanja potrebnih za usavršavanje procesa obavili su Padalino i sur. (2015). Oprema je sada komercijalno dostupna i instalira se u mnogim klaonicama širom svijeta (Vogel i sur., 2019). Kako uređaj za električno omekšavanje mesa postaje popularniji, minimiziranje stresa i uzbuđenja prije klanja postaje sve važnije. Utvrđeno je da uređaj za električno omekšavanje mesa neće poboljšati okus govedine od životinja koje su bile pod stresom prije klanja. U studiji su goveda bila izložena stresu korištenjem električnog stimulatora 10 minuta svakih 3 sata tijekom 15 sati, a zatim kontinuirano 30 minuta neposredno prije omamljivanja. Također su bila lišena hrane tijekom 48 sati. Električno omekšavanje trupova može pomoći u smanjenju učestalosti tamnih rezova jer prosvjetljuje boju mesa. Međutim, stres i posebno stres neposredno prije klanja smanjuju nježnost mesa (Padalino i sur., 2015).

Nedavne studije pokazuju da kalcij igra važnu ulogu u omekšavanju mesa. Kalcij djeluje s tvari koja se zove kalcij-aktivirajući faktor (CAF) kako bi pomogao razgradnju mišićnih miofibrila, a ova fragmentacija je važan element u omekšavanju mesa.

Postoje dokazi da stresni uvjeti uzrokuju prijenos kalcija iz krvi u masno tkivo kod ovaca. Razine kalcija u plazmi značajno su se smanjile unutar 30-60 minuta nakon injekcija epinefrina ili manjih operacija. Pad razine kalcija u plazmi mogao bi smanjiti količinu kalcija dostupnog u mišićima. Ovo može biti dio procesa koji čini meso tvrdim kada je životinja visoko stresirana neposredno prije klanja. Neispravan metabolizam kalcija u mišićima također je povezan s sindromom stresa kod svinja (Nielsen i sur., 2011).

Propisi reguliraju transport životinja i uvjete pod kojima se žive životinje moraju transportirati. Cilj tih propisa je minimizirati nepotrebno patnje životinja uključenih u transportni proces. S druge strane, dobro je poznato da transport i povezani procesi uzrokuju stres kod svinja i pogoršavaju kvalitetu mesa. Duljina transporta, odnosno udaljenost između farme i klaonice, određuje količinu stresa tijekom transporta. Zaključeno je da dok se proporcija mesa s teškim BMV poremećajem smanjuje, proporcija mesa s teškim TČS i umjerenim BMV poremećajem može rasti tijekom dugotrajnog transporta. Nadalje, utvrđeno je da kratki transporti mogu uzrokovati akutni stres kod svinja s visokim razinama glikogena, što može dovesti do teških BMV poremećaja (Terlouw, 2015).

Već dugo je poznato da uvjeti klanja mogu imati značajan utjecaj na kvalitetu mesa. Temeljni mehanizmi su dobro opisani: nakon klanja biokemijske reakcije se nastavljaju, ali budući da krv više ne cirkulira, dolazi do prestanka opskrbe kisikom i hranjivim tvarima. Posljedično, glikogen lokalno pohranjen u mišićima se anaerobno razgrađuje, a zbog nedostatka cirkulacije krvi proizvodi metabolizma, H^+ i laktat, akumuliraju se u mišiću, uzrokujući pad pH. Ovaj pad je inicijalno brz, zatim usporava i stabilizira se na vrijednosti koja se naziva konačni pH, do koje se dolazi približno 24 sata nakon smrti. Opseg pada pH uvelike ovisi o rezervama glikogena u mišićima prije klanja. Povećana aktivnost tijekom sati prije klanja smanjuje rezerve mišićnog glikogena i može rezultirati visokim konačnim pH, što je uzrok tamnog, čvrstog, suhog (TČS) mesa. Na primjer, ranija istraživanja su pokazala da je agresivno ponašanje kod bikova uzrokovalo povećanje proizvodnje TČS mesa. Viši konačni pH (6,2 i više) povezan je s povećanom sočnošću i nježnošću mesa, ali i s neugodnim teksturama, okusom i mirisom. Općenito, pri višim vrijednostima konačnog pH, meso je tamnije. Meso s relativno visokim konačnim pH (obično iznad 6,0) ima vrlo negativne karakteristike, uz svoju tamnu boju općenito je teško održati zbog olakšane bakterijske razvijenosti (Terlouw, 2015).

Tablica 1. Utjecaj RYR1-1843 mutacije na svojstva kakvoće mesa.

Svojstvo	RYR1-1843 genotip		Značajnost razlike
	Nn	NN	
pH 45 min nakon klanja	5,91	6,28	0,01
pH 24 h nakon klanja	5,41	5,42	NS
L* vrijednost	46,80	44,50	0,05
Gubitak tekućine kapanjem	5,02	3,06	0,001

Izvor: Terlouw, 2015.

Pojava BMV mesa (blijedo, mekano, vodeno meso) povezana je s prisutnošću mutiranog oblika RYR1 gena. Ključni uzrok BMV mesa kod tih životinja je produženo visoka temperatura u mesu nakon klanja, u kombinaciji s brzim padom pH mišića unutar prvih 45 minuta nakon klanja. Brzi pad pH je rezultat anaerobne razgradnje glikogena u mišićima i nakupljanja visokih razina laktata. Kao posljedica, BMV meso ima nizak pH, svjetliju (blijedu) boju i veći gubitak tekućine tijekom hlađenja, prerade i pripreme, u usporedbi s normalnim mesom. Svijetla boja mesa nastaje zbog denaturacije mišićnih bjelančevina, uključujući mioglobin, u uvjetima niskog pH i visoke temperature, kao i zbog nakupljanja vode u mišićnom presjeku. U Tablici 6 prikazana su svojstva mesa svinja koje nose mutirani RYR1-1843 alel (Nn) u usporedbi s onima koji su slobodni od ove mutacije (Terlouw, 2015).

Dok veličina pada pH uvelike ovisi o rezervama glikogena u mišićima, brzina pada pH ovisi o metaboličkoj aktivnosti mišića neposredno prije klanja. Ako je metabolička aktivnost visoka prije klanja, ona će se nastaviti nakon smrti životinje. Na primjer, vježbanje na traci neposredno prije klanja rezultiralo je bržim padom pH, uzrokujući proizvodnju blijedog, mekanog, vodenastog (BMV) mesa. Brzi rani post-mortem pad pH uzrokuje denaturaciju mišićnih proteina zbog povezivanja niskog pH i relativno visoke temperature mišića. Učinci tih varijabli na brzinu i opseg denaturacije proteina, oksidaciju i proteolizu, oksidaciju lipida, karakteristike boje, kapacitet zadržavanja vode i senzorne aspekte mesa su dobro poznati. Povećana metabolička aktivnost neposredno prije klanja posebno je primjetna kod svinja i

peradi, jer ove vrste imaju visoke udjele glikolitičkih vlakana u svojim mišićima (Atkison, 2000).

Iako gore navedeni fenomeni, povećani konačni pH ili povećana brzina pada pH, uključuju status energetske rezervi mišića i energetske metabolizam, također su snažno povezani sa stresom životinje. Emocionalni stres često povećava aktivnost simpatičkog živčanog sustava, što rezultira povećanjem srčanog ritma i sekrecijom katekolamina (adrenalin i noradrenalin) u krvi. Ova povećana simpatička aktivnost omogućuje životinji da fizički reagira na podražaj koji uzrokuje stres, na primjer, da pobjegne ili se bori. Posebno je zanimljivo u ovom kontekstu što katekolamini stimuliraju razgradnju glikogena, posebno u aktivnim mišićima, što je općenito slučaj tijekom klanja. Vježbanje dodatno povećava temperaturu mišića, što zauzvrat povećava brzinu glikogenolize mišića. U post-mortem mišiću također, pad pH je brži pri višim temperaturama (Atkison, 2000).

Povezanost povećane aktivnosti i hormonskih promjena zbog stresa tijekom razdoblja prije klanja može potaknuti razgradnju glikogena. To može dovesti do niskih rezervi glikogena u mišićima i povećati rizik od proizvodnje mesa s povećanim konačnim pH-om ili, ako se dogodi neposredno prije klanja, do pojačanog metabolizma i time bržeg ranog postmortem pH-a i sporijeg opadanja temperature. Stres može dodatno utjecati na mekoću mesa. Dok je odnos između opadanja pH-a i mekoće mesa dobro uspostavljen za meso svinja i peradi, kod goveda taj odnos nije toliko jednostavan. Unatoč nedostatku jasne, linearne povezanosti između opadanja pH-a i mekoće, nekoliko studija pokazuje da stres prije klanja može utjecati na mekoću govedine. U jednom istraživanju, krave su klane prema dvjema standardiziranim procedurama, od kojih je jedna bila dizajnirana da izbjegne stres što je više moguće, dok je druga bila namijenjena izazivanju određenog fizičkog napora i emocionalnog stresa. Krave klane prema potonjoj, dodatnoj stres proceduri, proizvele su znatno tvrđe meso nego krave klane prema minimalnom stres postupku. Ti učinci nisu bili izravno povezani s brzinom ili amplitudom opadanja pH-a. Također je utvrđeno da korištenje električnih podraživala na govedima nije bilo povezano s nižim ocjenama senzorskih svojstava, uključujući mekoću, od strane potrošača. Povećane koncentracije mliječne kiseline u krvi prilikom krvarenja također sugeriraju da akutni stres neposredno prije klanja može negativno utjecati na mekoću (Kundid, 2016).

Zaključno, čak i umjereni stres tijekom klanja može utjecati na postmortem pH, opadanje temperature i senzorne kvalitete mesa, uključujući mekoću govedine. Kao što je navedeno, stresno stanje životinje povezano je s njezinim emocionalnim stanjem. Stoga, stresno stanje životinje ovisi o načinu na koji životinja ocjenjuje svoje okruženje.

Učinak prisutnosti gena stresne osjetljivosti kod svinja poznatog i kao halotan gena, dugo je poznat. On prvenstveno utječe na staničnu reakciju na stres, ali ne i na način na koji životinje ocjenjuju svoje okruženje. Različite pasmine ili linije, koje nisu nositelji halotan gena, mogu se razlikovati u načinu reagiranja, ponašanja i fiziološki, na različite izazove. To je ilustrirano istraživanjem koje uspoređuje *Duroc* i *Large White* svinje. Svaka svinja je bila podvrgnuta dvama testovima: i) izloženosti nepoznatom objektu i ii) izloženosti ljudima. *Duroc* su češće dodirivali osobu nego *Large White* svinje. Budući da su *Duroc* bile aktivnije tijekom ovog testa nego *Large White* svinje, imali su i veće srčane frekvencije. Ova razlika između pasmina bila je specifična za motivaciju dodirivanja čovjeka, jer nisu pronađene razlike u testu s nepoznatim objektom. Rezultati pokazuju da su dvije pasmine različito ocjenjivale prisutnost osobe (Kundid, 2016). Slični rezultati pronađeni su i kod goveda. Na primjer, tovna goveda više su se udaljavala kada su im ljudi prilazili nego mliječna goveda uzgojena u istim uvjetima. Značajne razlike u reaktivnosti na rukovanje i druge izazove također su uočene između različitih pasmina goveda za meso. Kada su uspoređivani mladi *Angus*, *Blond d'Aquitaine* i *Limousin* bikovi u testu izloženosti ljudima i testu iznenađenja (iznenada otvaranje kišobrana), pasmine su se razlikovale u više od deset ponašanja tijekom testova reaktivnosti na stres. *Blond d'Aquitaine* bikovi bili su reaktivniji nego *Angus*, dok su *Limousin* imali većinom srednje razine odgovora. *Blond d'Aquitaine* bikovi pokazali su više pokušaja bijega i reakcija na iznenađenje u testu iznenađenja, te veću budnost u prisutnosti nepomične osobe, nego *Angus* bikovi. To je u skladu s rezultatima istraživanja u klaonici, gdje su *Blond d'Aquitaine* bikovi bili reaktivniji od *Charolais* bikova (Atkison, 2000). Istraživanja drugih vrsta također su pokazala genetsku osnovu za reaktivnost na stres.

Kada se uspoređuje fiziološko stanje stresa između različitih pasmina goveda pri klanju, nekoliko studija je pronašlo različite razine urinarnog katekolamina i kortizola, barem kada se izraze u odnosu na razine urinarnog kreatinina. Ove više razine katekolamina bile su povezane s tamnijim mesom. Pilići francuske linije pokazali su povećanu ponašajnu

reaktivnost, u smislu mahanja krilima na liniji za vješanje, u usporedbi s brzim rastom standardne linije i ove povećane razine mahanja krilima bile su povezane s bržim opadanjem pH mesa (Atkison, 2000). Povećana ponašajna i fiziološka reaktivnost nisu uvijek povezane. Na primjer, pri klanju, mladi bikovi su se činili ponašajno reaktivnijima dok su krave imale više razine kortizola. Nisu sve studije pokazale razlike povezane s pasminama u statusu stresa pri klanju. Na primjer, *Duroc* i *Large White* svinje koje su pokazale različitu reaktivnost na stres tijekom odgoja nisu se razlikovale u svojim fiziološkim odgovorima na stres pri klanju provedenom neposredno nakon testova reaktivnosti. Slično tome, različite pasmine koza pokazale su slična povećanja u statusu stresa pri klanju (Kundid, 2016).

Razlike u reakciji na stres postoje ne samo među životinjama različitih pasmina ili sustava uzgoja, već i među jedinkama unutar iste pasmine ili linije i sustava uzgoja. Ove individualne razlike u odgovorima na stres pri klanju mogu objasniti razlike u brzini ili opsegu opadanja pH između životinja slične genetskog i uzgojnog porijekla, koje su klane u sličnim uvjetima. Na primjer, u različitim eksperimentima na svinjama, količina borbi i konačni pH bili su pozitivno korelirani, objašnjavajući do 67% varijabilnosti u konačnom pH mišića buta. To praktično znači da će se konačni pH, posebno mišića buta, povećavati proporcionalno količini borbi. Jak učinak borbi na opadanje pH može se objasniti kombinacijom fizičkog napora i fizioloških promjena koje borbe uključuju. Količina borbi bila je povezana s razinom oštećenja trupova, a količina borbi i ocjena oštećenja trupova bile su povezane s povećanjem razine plazma katekolamina (noradrenalina i adrenalina), kortizola, glukoze, laktata i slobodnih masnih kiselina. Povećanja laktata bila su barem djelomično posljedica učinaka katekolamina, jer su plazma glukoza i laktat bile pozitivno korelirane s razinama katekolamina. Moguće je da su pH mišića buta osjetljiviji na učinke borbi jer su više uključeni u fizički napor koji borba podrazumijeva, ali opadanje pH i/ili kapacitet zadržavanja vode drugih mišića, poput *Longissimus* mišića, također može biti pogođeno (Terlouw, 2015).

Povećana brzina otkucaja srca neposredno prije klanja ili povećane razine katekolamina u urinu korelirane su s bržim ranijim post-mortem opadanjem pH mesa kod svinja, krava i bikova, objašnjavajući do 52% varijacije u pH vrijednostima 45 minuta nakon klanja. Visoka frekvencija otkucaja srca obično je povezana s visokim razinama katekolamina i brzim metabolizmom prije i nakon smrti, što dovodi do bržeg opadanja pH. U drugom

eksperimentu, svinje koje su imale više razine katekolamina u urinu također su imale viši konačni pH. U ovom eksperimentu, povećane razine katekolamina u urinu bile su dodatno pozitivno korelirane s oštećenjem kože, što sugerira da su svinje s visokim razinama katekolamina više borile. Dakle, visoka fizička aktivnost tijekom razdoblja prije klanja povezana s visokim razinama katekolamina kod ovih svinja dovela je do iscrpljivanja zaliha glikogena i povećanog konačnog pH. Slični rezultati su pronađeni kod goveda. U eksperimentu, oko 22.000 goveda je proučavano u jednom klaonici u Južnoj Africi tijekom zimske sezone. U ovom eksperimentu, postotak tamnog mesa ($\text{pH} \geq 5.8$) eksponencijalno je rastao s povećanjem ocjena modrica. Također je pokazano da spol i farma s koje životinja potječe igraju ulogu, budući da je kod sličnih ocjena modrica, postotak tamnog mesa bio manji (Ovničević, Lukić, 2013).

Razlike u reakciji na stres među jedinkama ukazuju na to da stresni status životinje ovisi o tome kako ona procjenjuje situaciju u smislu prijetnje koju predstavlja za nju. Stoga je važno, prilikom proučavanja stresa kod životinja, uzeti u obzir stajalište životinje.

Općenito, jedinke pokazuju određenu dosljednost u načinu na koji reagiraju na stres. Dosljednost u reakciji na stres pokazana je za različite vrste i u različitim dobnim skupinama (svinje, goveda, laboratorijske životinje, ljudi). Na primjer, svinje koje su, u usporedbi s članovima svoje grupe, lakše napuštale svoju domaću staju bile su lakše za premještanje kroz hodnik i manje reaktivne prema ljudima ili obuzdavanju s nosnim remenom. Slično, junice koje su bile manje spremne istražiti nepoznati objekt, također su bile više sklone izbjegavanju hranjenja u blizini objekta koji izaziva strah i provodile su više vremena s glavom uspravnom u nepoznatom okruženju. Slična studija pokazala je dosljedne razlike u reakciji na stres kod ovaca.

S obzirom na dosljednost u reakciji na stres kod životinja, različite studije su pokušale predvidjeti reakcije na stres pri klanju na temelju individualnih razlika u odgovorima na stres promatranim tijekom uzgoja. Jedan eksperiment je otkrio da su mišići svinja koji su tijekom testa reaktivnosti u uzgoju bili privučeni ljudima u ranom post-mortem periodu bili hladniji, imali viši pH i manje laktata u usporedbi s vrstama koje su bile manje privučene ljudima. To sugerira da su ove svinje slabije reagirale na postupak klanja neposredno prije klanja, ili možda specifičnije, slabije na prisustvo ljudi tijekom ovog razdoblja. Posljedično, fizička i

metabolička aktivnost mišića bila je manja, što je rezultiralo sporijim razgradnjom glikogena (viši pH) i nižom temperaturom mišića. Slično, krave koje su u usporedbi s drugim članovima grupe pokazivale veće odgovore straha prema nepoznatom okruženju u testu reaktivnosti imale su toplije mišiće i niži pH u ranom post-mortem periodu. Te krave su također imale više razine noradrenalina u urinu i veće brzine otkucaja srca tijekom klanja, što ukazuje da su krave koje su se bojali nepoznatog bile više pod stresom tijekom klanja, u usporedbi s manje bojažljivim jedinkama. U drugom eksperimentu, reaktivnost mladih bikova različitih pasmina goveda na iznenadno otvaranje kišobrana testirana je nekoliko tjedana prije klanja. Bikovi različitih pasmina koji su pokazivali više brzine otkucaja srca odmah nakon otvaranja kišobrana imali su niži pH 40 minuta post mortem, i tako brže opadanje pH u *Longissimus* mišiću. To sugerira da je prisutnost iznenadnih događaja tijekom postupka klanja doprinijela stresu pri klanju i da je taj stres utjecao na post-mortem metabolizam mišića. Općenito, rezultati pokazuju da je moguće identificirati prije klanja one pojedince koji će vjerojatno biti više reaktivni na postupak klanja i da, ako ova reaktivnost nije uzeta u obzir prilagođavanjem postupaka klanja, mogu nastati posljedice za kvalitetu njihovog mesa (Atkison, 2000).

Razlike u konačnom pH među jedinkama također se mogu objasniti individualnim razlikama u načinu na koji životinje reagiraju na postupak klanja. Na primjer, čak i kada su uzgojene u istom okruženju, svinje se razlikuju u svojoj sklonosti ka agresivnim interakcijama tijekom miješanja. Moguće je identificirati te svinje prije klanja. Jaganjci koji su bili relativno reaktivni na socijalnu separaciju ili na novost također su pokazali povećane stresne reakcije pri klanju, što je označeno višim razinama kortizola prije klanja i konačnim pH u usporedbi s njihovim manje reaktivnim kolegama (Terlouw, 2015).

Reaktivnost na stres mjeren tijekom uzgoja može pomoći u predviđanju buduće nježnosti mesa. Vrijednosti Warner Bratzler shear force bile su veće kod jedinki s reakcijama koje su uključivale više frekvencije otkucaja srca. Uzgojni testovi koji uključuju slične mehanizme procjene kao u pokusima na svinjama pokazali su slične rezultate kod bikova, sugerirajući da će varijacije u reakcijama na stres povezane s klanjem biti predviđene ili čak modificirane (Terlouw, 2015).

Na kraju, individualne razlike u reakcijama na stres također mogu utjecati na kvalitetu mesa kroz različite aspekte procesa klanja, uključujući reakcije životinja na prisutnost ljudi, fizičku

aktivnost i odgovore na novost ili stresne situacije. Stoga, praćenje ovih odgovora može pomoći u minimiziranju negativnih učinaka stresa na kvalitetu mesa.

5. ZAKLJUČAK

Transport životinja do klaonica predstavlja jedan od ključnih izazova u proizvodnji mesa, jer stres povezan s transportom značajno utječe na fiziološke procese u organizmu i konačnu kvalitetu mesa. Fiziološki odgovori na stres uključuju niz kompleksnih biokemijskih i fizioloških promjena koje mogu rezultirati smanjenom kvalitetom mesa, što ima direktne ekonomske i etičke implikacije.

Transportni stres dovodi do povećanja razine hormona stresa, poput kortizola i adrenalina u organizmu životinja. Ovi hormoni pokreću kataboličke procese koji uključuju razgradnju glikogena u mišićima, što u anaerobnim uvjetima rezultira stvaranjem mliječne kiseline. Visoka koncentracija mliječne kiseline u mišićima snižava pH vrijednost mesa, čineći ga svjetlijim i sklonijim stanju poznatom kao BMV (blijedo, mekano i vodenasto). Svinje su posebno osjetljive na ovaj sindrom, a transportni stres može značajno povećati incidenciju BMV mesa.

Suprotno tome, produženi stres može rezultirati iscrpljenjem zaliha glikogena prije klanja, što sprječava nastanak mliječne kiseline i dovodi do visokog pH mesa. Ovo stanje poznato kao TČS (tamno, čvrsto, suho) meso je posebno uočljivo kod goveda i ovaca. TČS meso ima smanjenu sposobnost zadržavanja vode, što ga čini suhim i manje atraktivnim potrošačima. Također je sklono bržem kvarenju zbog povoljnijih uvjeta za rast bakterija.

Smanjenje transportnog stresa nije samo pitanje etičkog postupanja prema životinjama, već ima direktne ekonomske koristi za proizvođače mesa. Poboljšana kvaliteta mesa rezultira većim prihodom i zadovoljstvom potrošača, što dugoročno doprinosi održivosti i profitabilnosti proizvodnje i prerade mesa.

LITERATURA

1. Atkinson, S. (2000). *Farm animal transport, welfare and meat quality*.
2. Bhatt, N., Singh, N. P., Mishra, A. K., Kandpal, D., & Rajneesh, S. (2021). A detailed review of transportation stress in livestock and its management techniques. *International Journal of Livestock Research*, 11(1), 30-41.
3. Broom, D. M. (2003). Transport stress in cattle and sheep with details of physiological, ethological and other indicators. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 110(3), 83-88.
4. Costa, L. N. (2009). Short-term stress: The case of transport and slaughter. *Italian Journal of Animal Science*, 8(sup1), 241-252.
5. Dembiec, D. P., Snider, R. J., & Zanella, A. J. (2004). The effects of transport stress on tiger physiology and behavior. *Zoo Biology*, 23(4), 335-346.
6. Fazio, E., & Ferlazzo, A. (2003). Evaluation of stress during transport. *Veterinary Research Communications*, 27, 519-524.
7. Grandin, T. (1997). Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, 75(1), 249-257.
8. Grandin, T., & Shivley, C. (2015). How farm animals react and perceive stressful situations such as handling, restraint, and transport. *Animals*, 5(4), 1233-1251.
9. Hails, M. R. (1978). Transport stress in animals: A review.
10. Hartung, J. (2003). Effects of transport on health of farm animals. *Veterinary Research Communications*, 27(Suppl 1), 525-527.
11. Honkavaara, M., Rintasalo, E., Ylönen, J., & Pudas, T. (2003). Meat quality and transport stress of cattle. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 110(3), 125-128.
12. Kundid, J. (2016). *Utjecaj stresa na kakvoću mesa domaćih životinja* (Doctoral dissertation, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agriculture, Department for Special Zootechnics).
13. Knowles, T. G., Warriss, P. D., & Vogel, K. (2014). Stress physiology of animals during transport. In *Livestock handling and transport* (pp. 399-420). Wallingford, UK: CABI.
14. Nielsen, B. L., Dybkjær, L., & Herskin, M. S. (2011). Road transport of farm animals: Effects of journey duration on animal welfare. *Animal*, 5(3), 415-427.

15. Ovničević, D., & Lukić, B. (2013). Transportni stres i kakvoća svinjskog mesa. *Meso: prvi hrvatski časopis o mesu*, 15(4), 291-298.
16. Padalino, B., Hall, E., Raidal, S., Celi, P., Knight, P., Jeffcott, L., & Muscatello, G. (2015). Health problems and risk factors associated with long haul transport of horses in Australia. *Animals*, 5, 1296–1310.
17. Rioja-Lang, F. C., Brown, J. A., Brockhoff, E. J., & Faucitano, L. (2019). A review of swine transportation research on priority welfare issues: A Canadian perspective. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 36.
18. Terlouw, C. (2015). *Stress reactivity, stress at slaughter and meat quality*. CRC Press.
19. Tateo, A., Padalino, B., Boccaccio, M., Maggiolino, A., & Centoducati, P. (2012). Transport stress in horses: Effects of two different distances. *Journal of Veterinary Behavior*, 7(1), 33-42.
20. Vogel, K. D., Fabrega Romans, E., Llonch Obiols, P., & Velarde, V. (2019). Stress physiology of animals during transport. In *Chapter 3* (pp. 30-57).