

Die Mikrostruktur des Muskels und ihre Bedeutung für Wachstum und Fleischqualität

**Dr. J. Wegner,
Dr. I. Fiedler
Dr. Ch. Rehfeldt
Prof. Dr. K. Ender**

**Forschungsinstitut für die Biologie land-
wirtschaftlicher Nutztiere Dummerstorf**

Fleisch ist biologisch betrachtet Skelettmuskulatur, und die zellulären Bausteine des Muskels sind Muskelfasern, Fettzellen und Bindegewebe. Der den Tierzüchter besonders interessierende Fleisch- und Fettansatz des Tieres ist das Ergebnis des Wachstums dieser mikrostrukturellen Bestandteile. Die Fleischbeschaffenheit ist abhängig von der quantitativen Zusammensetzung und vom Zustand der zellulären Komponenten. Die Untersuchung des Muskelgewebes mit Hilfe mikroskopischer Methoden hat daher innerhalb der Fleischforschung international und auch in unserem Forschungsinstitut einen wichtigen Platz eingenommen.

1. Mikrostruktur des Muskels

Mit bloßem Auge sehen wir am Fleischanschnitt die sogenannte Körnung des Fleisches, die in Längsrichtung betrachtet, z.B. am gekochten Fleisch, als Fleischfaser sichtbar wird. Dabei handelt es sich jedoch nicht um Muskelfasern, denn diese sind durchschnittlich nur etwa 50...100 μm dick. Die Körnung des Fleisches bzw. die Fleischfasern ergeben sich aus der Bündelstruktur des Muskelgewebes (Abb. 1). Eine makroskopisch sichtbare Fleischfaser kann z.B. ein Primärbündel mit ca. 50...150 Muskelfasern sein. Die Muskelfasern sind in Primär-, Sekundär- und Tertiärbündeln angeordnet. Die oft recht starken Bindegewebsstränge, die wie Maschen eines Netzes den ganzen Muskel im Querschnitt durchziehen und die Bündelstruktur hervorrufen, haben u.a. die Funktion der Kräfteübertragung vom Muskel auf den Knochen und sind im Fleisch verantwortlich für die Zartheit. Im Bindegewebe verlaufen die größeren Blutgefäße, die den Muskel versorgen. Hier erfolgt auch die Einlagerung von intramuskulärem Fett. Bei gut veranlagten und gefütterten Tieren kann die auch mit bloßem Auge sichtbare Marmorierung des Fleisches aus mehr als tausend intramuskulären Fettzellen an einer Stelle bestehen. Das intramuskuläre Fett hat ohne Zweifel eine wesentliche Bedeutung für den Geschmack und die Saftigkeit des Fleisches (Abb. 2).

Hauptbestandteile des Muskelgewebes mit mehr als 90 % sind die Muskelfasern. Es sind hochspezialisierte Zellverbindungen mit einem Durchmesser von 10...150 μm und einer sehr unterschiedlichen Länge bis zu mehreren Zentimetern. Es ist so gut wie unmöglich, die Länge der Muskelfasern zu bestimmen, deshalb wird im folgenden immer vom Durchmesser bzw. der Querschnittsfläche gesprochen. Eine weitere Besonderheit der Muskelzelle ist das Vorkommen von unterschiedlichen Muskelfasertypen, ihre unterschiedliche Anordnung im Muskel und die von Muskel zu Muskel verschiedene prozentuale Zusammensetzung (Abb. 4).

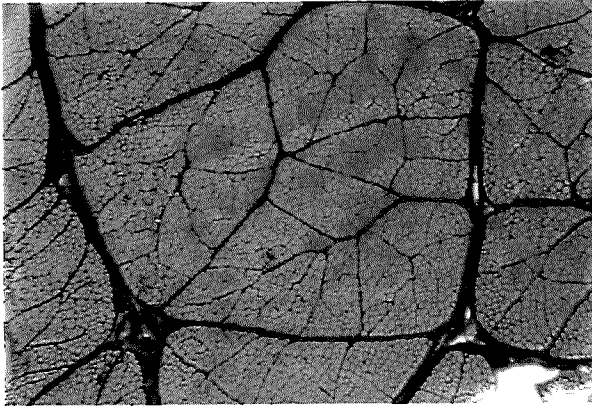


Abb. 1:
 Bündelstruktur
 des Muskelge-
 webes
 Hereford-Bulle,
 140 Tg. alt,
 Anilinblau-
 Orange G
 30 x vergrößert

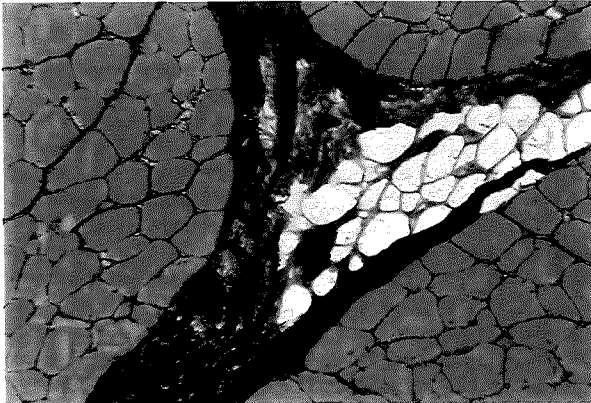


Abb. 2:
 Intramuskuläre
 Fettzellen
 (Marmorierung)
 Hereford-Bulle,
 140 Tg. alt,
 Anilinblau-
 Orange G
 120 x vergrößert



Abb. 3
 Subcutane
 Fettzellen
 (Auflagefett)
 Hereford-Bulle,
 140 Tg. alt,
 Hämalaun-Eosin
 30 x vergrößert

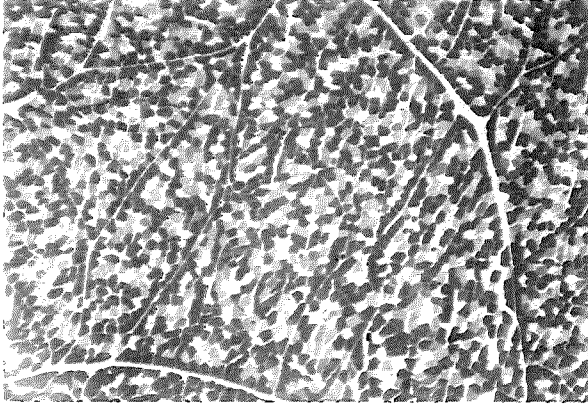


Abb. 4:
Muskelfaser-
typen
Galloway-Ochse
482 kg
ATPase mit
Azur A
30 x vergrößert

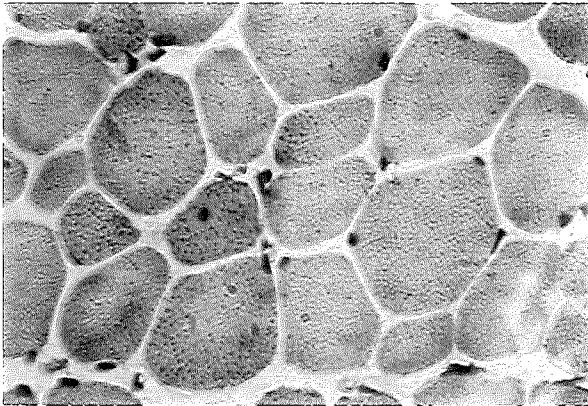


Abb. 5:
Muskelfasern
mit Zellkernen
Hereford-Bulle,
140 Tg. alt,
Hämalaun-Eosin
400 x vergrößert

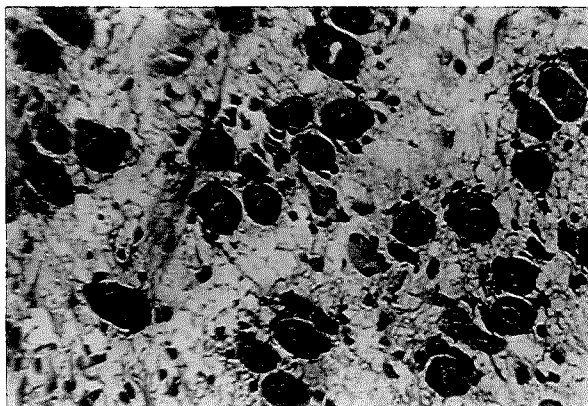


Abb. 6:
Embryonale
Muskelzellen
Hämalaun-Eosin
400 x vergrößert

Mikrofotos:
Dr. J. Wegner

Die Muskelfasern werden aufgrund metabolischer Eigenschaften in weiße, rote und intermediäre Muskelfasern, und aufgrund ihrer kontraktilen Eigenschaften in langsam und schnell kontrahierende Muskelfasern klassifiziert.

In den für den Tierzüchter wichtigen Muskeln der Keule und des Rückens, z.B. dem M. semitendinosus und M. longissimus tritt beim schlachtreifen Rind und Schwein eine "Neststruktur" mit ca. 15 % roten, 15 % intermediären und 70 % weißen Muskelfasern auf. Die unterschiedlichen Muskelfasertypen entstehen durch unterschiedliche Innervation von verschiedenen Motoneuronen. Der Nachweis der Muskelfasertypen erfolgt am histologischen Schnittpreparat durch verschiedene histochemische Reaktionen, die eine unterschiedliche Färbung bewirken. So kann die unterschiedliche Mitochondriendichte der Muskelfasern mit der sogenannten Diaphorase-Reaktion nachgewiesen werden (NOVIKOFF u.a., 1961). Die mitochondrienreichen roten Muskelfasern sind dunkel, die weißen mitochondrienarmen Muskelfasern hell und die intermediären Muskelfasern, besonders beim Schwein, durch randständige Mitochondrien gekennzeichnet. Eine zweite Möglichkeit der histologischen Fasertypendifferenzierung ergibt sich aufgrund der Myosin-ATPase-Reaktion. Hierbei wird der unterschiedliche Kontraktionstyp (schnell oder langsam kontrahierend) der Fasern nachgewiesen. Diese Typendifferenzierung mit zusätzlicher Anfärbung mit Azur A (SZENTKUTI u. EGGERS, 1985) hat sich besonders gut bei der Rindermuskulatur bewährt. Mit weiteren histochemischen Methoden, wie alkalische Kombination und saure Kreuzkombination (ZIEGAN, 1979) ist eine gleichzeitige Darstellung des Kontraktions- und Stoffwechseltyps der Fasern möglich. Die beiden letztgenannten Reaktionen sind sehr aufwendig und hauptsächlich in der Humanmedizin gebräuchlich.

Die Muskelfaser hat zahlreiche Zellkerne, da es keine Zellwände im Längsverlauf der Muskelfaser gibt (Syncytium). Die Zellkerne liegen, außer im embryonalen Stadium, immer am Rand der Faser, wo sie die Kontraktion der Myofibrillen am wenigsten stören. Pro Faserquerschnittsfläche findet man 1 bis 2 angeschnittene Zellkerne (Abb. 5).

Jede Muskelfaser wird von Blutkapillaren versorgt. Sie liegen zwischen den Muskelfasern, sind etwa 5 µm dick, und im Durchschnitt findet man pro Faser 1...4 Kapillaren. Die oxidativen, roten Muskelfasern haben mehr Kapillaren pro Faserfläche als die glykolytischen, weißen Muskelfasern. Das Kapillar/Faser-Verhältnis ist einer der Parameter für eine optimale Sauerstoff- und Nährstoffversorgung.

Bei starker Mikroskopvergrößerung kann man sehen, daß sich die Muskelfaser aus zahlreichen Myofibrillen zusammensetzt. An der Grenze der Lichtmikroskopie bei 1250facher Vergrößerung sind in den Myofibrillen die Abschnitte der Aktin und Myosinfilamente zu sehen, die die typische Querstreifung und Skelettmuskelfaser bewirken. Der Abstand zwischen den Z-Linien innerhalb der Aktinabschnitte wird als Sarkomerenlänge bezeichnet. Die Sarkomerenlänge ist ein Maß für den Kontraktionszustand des Muskels und gilt als ein Parameter für die Zartheit beim Rindfleisch (SMULDERS u.a., 1990).

2. Methodik der Untersuchung von mikrostrukturellen Veränderungen während des Wachstums am lebenden Tier

In der Vergangenheit wurden Wachstumsvorgänge vor allem aufgrund von Stufenschlachtungen untersucht. Mit Hilfe der Schußbiopsie (SCHÖBERLEIN, 1976; WEGNER u. SCHÖBERLEIN, 1984 und 1986) und der mikroskopischen Untersuchung der Biopsieproben ist es möglich, schon am lebenden Tier und durch mehrmalige Biopsie auch am selben Tier Wachstumsveränderungen zu studieren. Das Schußbiopsiegerät besteht aus einem umgebauten Schlachtviehbetäubungsapparat, an dessen Schußbolzen eine Kanüle befestigt wird. Beim Zurückschnellen des Bolzens wird die ausgestanzte Probe mit Hilfe von Abtrennelementen in der Kanüle herausgezogen. Das Schußbiopsiegerät erfüllt alle Forderungen hinsichtlich einer schnellen und unkomplizierten Probenentnahme im Stall und auch im Schlachthof. Es ist keine Fixierung der Tiere und keine Narkose bzw. Lokalanästhesie notwendig. Die Wundheilung erfolgt nach Wundversorgung mit einem Antibiotikaspray komplikationslos. In den vergangenen Jahren wurden von uns mehr als 2.000 Biopsieproben von Schweinen und Rindern verschiedenen Alters entnommen. Die Tierversuche mit Schußbiopsie müssen von der Tierschutzkommission des Landes genehmigt werden.

Die durch Biopsie im Stall, auf der Weide oder am Schlachtkörper im Schlachthof entnommenen Proben für die mikroskopische Untersuchung werden sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und auch darin bis zur Weiterverarbeitung im Labor aufbewahrt.

Im Labor werden mit einem Cryostatmikrotom bei -20°C 12 μm dicke Schnitte hergestellt. Die histologische oder histochemische Anfärbung erfolgt entsprechend der Zielstellung der Untersuchung z.B. zur Darstellung der Muskelfasertypen mit histochemischen Enzymreaktionen, wie im Punkt Muskelstruktur dargestellt. Eine Zusammenstellung der Labormethoden findet man bei ENDER u.a. (1987). Für das Messen und Zählen der mikrostrukturellen Parameter steht uns bisher ein halbautomatischer, computergestützter Mikroskopbildanalysator zur Verfügung (BEYERSDORFER u.a., 1985), der zur Zeit durch ein neues automatisches Bildanalysensystem "Quantimet 570" ergänzt wird.

3. Myogenese und postnatales Muskelwachstum

Eine wichtige Voraussetzung für das spätere Wachstum des Individuums ist der Prozeß der embryonalen und fetalen Myogenese, in dem sich die Entwicklung und Differenzierung des Skelettmuskelgewebes aus dem mesodermalen Keimblatt vollzieht. Das Prinzip der Myogenese beruht auf der Fusion einkerniger Myoblasten zu vielkernigen Myotuben, die sich wiederum zu den reifen Skelettmuskelfasern entwickeln (STROMER u.a., 1974). Dabei entsteht aus mesodermalen Zellen zunächst eine sogenannte Myoblastenvorstufe. Es handelt sich dabei um einkernige Zellen, die noch keine Fähigkeit zur Synthese kontraktile Proteine (Aktin, Myosin u.a.) aufweisen. Die sich daraus entwickelnden, ebenfalls einkernigen, spindelförmigen Myoblasten sind im Gegensatz zu ihren Vorgängern zur Fusion mit anderen Myoblasten und zur Synthese myofibrillärer Proteine fähig. Durch die Fusion der Myoblasten entstehen schließlich vielkernige Myotuben (Abb. 6).

Daraus entwickeln sich wiederum reife Muskelfasern mit peripher angeordneten Kernen und gut ausgebildeten Myofibrillen.

Die Bildung der Muskelfasern erfolgt in zwei Phasen (ASHMORE u.a., 1973; BEERMANN u.a., 1977) im Verlauf der embryonalen Entwicklung und reicht bei einigen Tierarten bis in die frühe postnatale Phase hinein. An die sogenannten primären Fasern lagern sich weitere Myoblasten an, die dann in linearer Folge fusionieren und sekundäre Fasern bilden.

Ein wichtiges Ereignis bei der Entwicklung und Ausdifferenzierung der Muskelfasern ist offensichtlich der Übergang von der Proliferation zur Fusion der Myoblasten bzw. die Wirkung der Faktoren, die die Zellen in Fusionsbereitschaft versetzen: denn damit ist der Myoblastenproliferation ein Ende gesetzt und die Anzahl der postnatal vorhandenen Muskelfasern weitgehend festgelegt.

Das postnatale Wachstum der Skelettmuskulatur stellt unter normalen Bedingungen nur noch eine Vergrößerung der vorhandenen Muskelfasern dar, die ihrerseits physiologisch begrenzt ist. Die Gesamtanzahl der Muskelfasern ist somit ein entscheidender Faktor für das Wachstumspotential eines Muskels.

In Abbildung 7 sind Ergebnisse zur Konstanz der Muskelfasergesamtanzahl während des Wachstums anhand von Stufenschlachtungen dargestellt. Die Untersuchungen bei der Labormaus am *M. rectus femoris* (REHFELDT u.a., 1984), beim Schwein am *M. longissimus* (FIEDLER, 1983) und Rind am *M. semitendinosus* (WEGNER, 1983) zeigen übereinstimmend, daß das postnatale Wachstum des Muskels im wesentlichen durch die Vergrößerung (Hypertrophie) der bei der Geburt vorhandenen Muskelfasern erfolgt. Die Schwierigkeit, diese Tatsache für die Züchtung zu nutzen, liegt darin, daß es kaum möglich ist, am lebenden Tier die Gesamtanzahl zu bestimmen. Gegenwärtig laufen Untersuchungen, dieses Problem mit Hilfe der Computertomographie und Biopsie zu lösen.

Die postnatale Differenzierung der Muskelfasertypen ist bei den Tierarten Maus, Schwein und Rind unterschiedlich. Während bei den Nesthockern, besonders Maus, zum Zeitpunkt der Geburt noch keine unterschiedlichen histochemisch differenzierbaren Muskelfasertypen vorhanden sind, können beim Rind als Nestflüchter bereits alle drei Fasertypen sichtbar gemacht werden. Im weiteren Verlauf des Wachstums erfolgt im juvenilen Stadium eine Faserumwandlung von roten über den intermediären zum weißen Muskelfasertyp. Beim schlachtreifen Tier liegt der prozentuale Anteil weißer Muskelfasern im *M. longissimus* und *M. semitendinosus* bei 70...80 %.

Ein Vergleich der wachstumsbedingten Veränderungen der Muskelfaserdurchmesser bei Schweinen und Rindern zeigt ein verstärktes Wachstum der weißen und roten Muskelfasern beim Schwein (Abb. 8). Besonders die weißen Muskelfasern beim Schwein sind durch die züchterische Beeinflussung der Kotelettfäche stark vergrößert. Deshalb treten auch beim Schwein vermehrt Fleischqualitätsmängel sowie verschiedene pathologische Faserveränderungen auf, die bisher beim Rind nicht festgestellt werden konnten. Diese Faserveränderungen präsentieren sich als Riesenfaser, aufgelöste Faser oder denervierte Faser (small - dark - angulated) (WEGNER u. ENDER, 1990).

Die postnatale Fasertypenumwandlung ist beim Rind bezüglich der weißen Fasern schon am 140. Lebenstag abgeschlossen. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die frühzeitige Differenzierung der Muskulatur beim Rind (Abb. 9).

Vorläufige Ergebnisse zum Vergleich verschiedener Rinderrassen (Abb.10) zeigen deutlich das starke Muskelwachstum bei Simmental-Kreuzungen gegenüber Holstein-Friesian-Anpaarungen. Bei letzteren ist vom 240. bis 400. Lebenstag kein signifikantes Muskelfaserwachstum zu verzeichnen.

Ein Vergleich gleichalter Rinder (Biopsie am 400. Lebenstag) (Tab.1) zeigt die dicksten Muskelfasern bei den Simmentalern, gefolgt von Galloway. Die Holsteiner und die SMR-Bullen haben erwartungsgemäß die dünneren Muskelfasern.

Zum Problemkreis Wachstum gehört auch die Frage der Regeneration von zerstörtem Muskelgewebe. Aufgrund der hochspezialisierten Struktur von Muskelfaser und der Tatsache, daß nach der Geburt in der Regel keine neuen Muskelfasern gebildet werden, gestaltet sich die Regeneration z.B. nach Verletzungen sehr kompliziert und langwierig. Anhand von Stufenschlachtungen nach einer Schußbiopsie am Rind konnten die Stadien der Regeneration am 3., 17., 52. und 128. Tag nach der Biopsie mikroskopisch verfolgt werden (WEGNER u. SCHÖBERLEIN, 1986). Nach 3 Tagen findet man neben unverletzten Muskelfasern vor allem untergehende Muskelfasern, d.h. das Bild einer felderförmigen Muskelnekrose. 17 Tage später hat sich junges zellreiches Narbengewebe gebildet, und es sind kleine dunkle Fasern in der Regenerationszone zu finden, die als myotubuläre Fasern gedeutet werden. Ihre Entstehung wird auf Satellitenzellen zurückgeführt, die sich seit der Myogenese an der Peripherie der Muskelfasern befinden. Satellitenzellen sind zur Synthese von DNA und zu Mitosen fähig und als Reservezellen, z.B. für Regenerationsvorgänge angelegt. Die weitere Erforschung der Satellitenzellen und ihrer Funktionen könnte von Nutzen für die Erhöhung der Muskelwachstumsleistung auf dem Weg der Neubildung von Muskelfasern (Hyperplasie) sein.

4. Wachstumsstimulation

Mit dem Ziel der Wachstumsförderung sind bei Labortieren und Nutztieren seit Mitte der 70iger Jahre zahlreiche Experimente zur Ermittlung von Effekten exogen zugeführter Substanzen angestellt worden. Dabei steht bei unseren mikrostrukturellen Untersuchungen weniger der praktische Anwendungsaspekt im Vordergrund, sondern vielmehr die Aufklärung von Mechanismen der Wachstumsregulation und eine Objektivierung der Effekte, die selbstverständlich als sachliche Grundlage und Entscheidungshilfe für die Praxis dienen können. Besonders solche Wirkstoffe sind interessant, die den Eiweißansatz in der Muskulatur stimulieren, das Fettwachstum hemmen und die angebotenen Nährstoffe bestmöglich nutzen. Zu den sogenannten "repartitioning agents", die eine Umverteilung der Nahrungsenergie zugunsten des Proteinansatzes und zu Lasten des Fettansatzes bei verbesserter Futtereffizienz bewirken, gehören z.B. die β -adrenergen Agonisten (Cimaterol, Clenbuterol u.a.) sowie auch das Somatotrope- oder Wachstumshormon. Zu den makroskopischen Effekten dieser Wirkstoffe liegen zahlreiche Ergebnisse für die verschiedensten Tierspecies vor (Übersichten YANG u.

Mc ELLIGOT, 1989; REICHEL, 1990; EVERS u. REHFELDT, 1987). Die Effekte sind insgesamt relativ einheitlich: mehr Fleisch - weniger Fett.

Histologische und biochemische Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß dieses einheitliche Ergebnis bei den genannten Wirkstoffen auf verschiedenen Wegen erreicht wird. Sowohl β -Agonisten als auch Somatotropin führen zu einer Stimulierung der Muskelfaserhypertrophie bei gleichbleibender Muskelfasergesamtanzahl. Das Kern/Plasma-Verhältnis der Muskelfasern sowie DNA-Konzentration und DNA/Protein-Verhältnis bleiben bei Langzeitbehandlung mit STH unverändert, erhöhen sich aber nach Behandlung mit β -Agonisten (REHFELDT u.a., 1991; WEIKARD u.a., 1992a,b). Das bedeutet, daß die Kernvermehrung (Satellitenzellproliferation) durch STH in gleichem Maße gesteigert wird wie die Proteinakkumulation. Dies könnte ein Vorteil der STH-Wirkung gegenüber der β -Agonist-Wirkung sein, da die starke Vergrößerung einer DNA-Versorgungseinheit möglicherweise zu Fehlfunktionen im Muskelstoffwechsel führt.

Einen weiteren Reaktionsunterschied gibt es in der Fasertypenverteilung. Während nach STH-Behandlung im allgemeinen keine Veränderungen im metabolischen und kontraktiven Fasertypenmuster auftreten, bewirken die β -Agonisten einen deutlichen Anstieg der schnell kontrahierenden glykolytischen Muskelfasern (MALTIN u.a., 1986). Hohe Anteile dieser Faserkategorie stehen mit Konstitutions- und Fleischqualitätsmängeln im Zusammenhang. Aber auch stark vergrößerte Muskelfasern sind in dieser Beziehung nicht erstrebenswert. Optimal wäre eine relativ hohe Anzahl mäßig wachsender Muskelfasern, die im Endergebnis denselben Fleischtrag bringt, wie eine mittlere Anzahl schnell wachsender Fasern. Die Faseranzahl ist jedoch bei der Geburt festgelegt und läßt sich, außer durch ein spezielles Training, postnatal kaum beeinflussen. In diesem Zusammenhang erhielten wir in unserem Labor ein interessantes Ergebnis nach der Behandlung trächtiger Sauen mit procinem Somatotropin. Bei zweiwöchiger Behandlung in der frühen Trächtigkeit wurden im M. semitendinosus der neugeborenen Ferkel wesentlich mehr Muskelfasern gefunden. Die Muskulatur solcher Tiere hätte damit ein vergleichsweise hohes Wachstumspotential (REHFELDT u.a., 1992).

Beim Rind wurde das Wachstum von Muskelfasern und Fettzellen nach Implantation von Zeranol (Handelspräparat: RALGRO) untersucht (WEGNER u. ENDER, 1993). Zeranol ist ein Wachstumsförderer, der in zahlreichen Ländern in der Rindermast eingesetzt wird. Neben östrogenen Effekten entfaltet Zeranol auch auf anderen Wegen Wirkungen, deren Mechanismen noch nicht in allen Einzelheiten geklärt sind. So bedingt es in der Hypophyse eine vermehrte Ausschüttung von Wachstumshormon. Die anabole Wirkung äußert sich besonders bei Ochsen in erhöhtem Proteinansatz, geringerer Fettbildung und schnellerem Wachstum.

Unsere Untersuchungen an Bullen sollten einen Beitrag zur Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Muskelbiologie leisten. 20 Bullen (10 Versuchstiere, 10 Kontrollen) der Rasse Schwarzbuntes Milchrind wurden bis zu einem Gewicht von 500 kg gemästet. Die 10 Versuchstiere erhielten am 1., 85., 170. und 255. Lebenstag jeweils 36 mg Zeranol subkutan implantiert. Mit Hilfe der Schußbiopsietechnik (WEGNER u.

SCHÖBERLEIN, 1986) erfolgte eine Probenentnahme aus dem M. semitendinosus am 140., 180., 24., 300. und 400. Lebenstag (Abb. 11). Die östrogene Wirkkomponente von Zeranol bewirkte eine deutliche Verzögerung der Ausbildung primärer und sekundärer Geschlechtsmerkmale bei den Bullen.

Die Lebendmasseentwicklung und die Fleischbeschaffenheit wurden nicht beeinflusst. Ein leicht erhöhter täglicher Ansatz von Fleisch und Fett zu Lasten der Knochenentwicklung wurde im Ergebnis von Stufenschlachtungen parallel zu diesem Versuch festgestellt (PAPSTEIN u.a., 1992). Eine Verbesserung der Fleischqualität der Bullen, insbesondere im Hinblick auf eine vermehrte Einlagerung von intramuskulärem Fett (Marmorierung), wurde nicht erreicht.

Auf zellulärer Ebene zeigte sich bei den behandelten Tieren ab dem 180. Lebenstag ein verstärktes Wachstum der Muskelfasern (Abb. 12). Der Einfluß der Zeranolimplantation auf die Muskelfasertypenverteilung äußert sich dahingehend, daß vom 140. bis 180. Lebenstag ein signifikanter Anstieg des Anteils weißer und intermediärer Muskelfasern und ein starker Rückgang des Anteils roter Muskelfasern stattfindet (Abb. 13). Diese Faserumwandlung ist ein Ausdruck für nachfolgend intensives Wachstum der Muskelfasern. Im weiteren Verlauf fällt der geringe Anteil intermediärer Fasern bei den behandelten Tieren auf. Zum Schlachtzeitpunkt gibt es keine signifikanten Unterschiede in der Muskelfasertypenverteilung.

Die Anzahl Zellkerne pro Muskelfaser zeigt keine Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren, wodurch sich das Verhältnis: Kerne pro Muskelfaserfläche der stärker wachsenden Muskelfasern der RALGRO-Tiere verringerte (Abb. 14). Zum gleichen Ergebnis kamen REHFELDT u.a. (1992) bei der Verabreichung von Clenbuterol an Ratten.

Die Sarkomerenlänge war nicht signifikant durch RALGRO beeinflusst (Abb. 15).

Der Durchmesser der subkutanen Fettzellen (Abb. 3) hat ebenso wie der Durchmesser der Muskelfasern bei behandelten Tieren nach dem 180. Lebenstag eine höhere Wachstumsgewindigkeit und ist am 240. und 300. Lebenstag größer (Abb. 16). Bei den intramuskulären Fettzellen gibt es während des Wachstums keine wesentlichen Unterschiede. Zum Schlachtzeitpunkt sind die intramuskulären Fettzellen der behandelten Tiere kleiner. Bei allen anderen mikrostrukturellen Merkmalen haben sich die Unterschiede während des Wachstums bis zum Schlachtzeitpunkt weitestgehend ausgeglichen. Der letzte Implantationszeitpunkt lag ca. 165 Tage vor dem Schlachten und die Wirkdauer des Präparates RALGRO wird mit nur 90 Tagen angegeben.

Der Einsatz von Zeranol (RALGRO) bei Bullen brachte bei einer Schlachtung mit 500 kg keine spektakulären Ergebnisse, wie sie für die Ochsenmast oder für den Einsatz von pST bei Schweinen berichtet werden. Während des Wachstums gibt es jedoch bei den behandelten Bullen zelluläre Veränderungen in Richtung eines erhöhten Protein- und Fettansatzes, die mit der Schußbiopsiemethodik sehr gut beobachtet werden konnten.

5. Genetische Parameter der Muskelfasermerkmale, ihre Beziehungen zur Fleischqualität und Möglichkeiten für eine züchterische Nutzung

Die Aufgabe, relevante Beziehungen zwischen mikrostrukturellen Merkmalen der Muskulatur und Fleischqualitätskriterien aufzuzeigen, wird seit längerer Zeit intensiv wissenschaftlich bearbeitet. Mit Experimenten zu dieser Thematik soll geprüft werden, ob die am lebenden Tier bestimmbaren quantitativen Muskelstrukturmerkmale geeignet sind, die Genauigkeit der Zuchtwertschätzung hinsichtlich der Mast- und Schlachtleistung, insbesondere der Fleischqualität zu erhöhen. Vor einer Anwendung neuer, auf der Kenntnis der Muskelstruktur basierender Kriterien in der Züchtung, muß jedoch ihre genetische Grundlage bekannt sein, und ein gesicherter Nachweis ihrer züchterischen Effizienz an der entsprechenden Tierart erbracht werden.

Dieser Nachweis wird durch Aussagen über die genetische Variabilität und Heritabilität der Merkmale sowie über genetisch begründete Beziehungen zu wichtigen Leistungsmerkmalen gefunden. Da für solche Untersuchungen nur sehr hohe Stichprobenumfänge die nötige statistische Sicherheit bieten, wurden zunächst verschiedene Experimente am Modelltier Labormaus durchgeführt. Sie ergaben für die Muskelfaserdicke und die Muskelfaseranzahl relativ hohe phänotypische und genetische Variabilitäten, ansprechende Selektionserfolge, und die Muskelfaseranzahl relativ hohe phänotypische und genetische Variabilitäten, ansprechende Selektionserfolge, Heritabilitäten im niedrigen Bereich und geringe maternale Einflüsse (Tab. 2). Über die Berechnung genetischer Korrelationskoeffizienten und durch die Ermittlung korrelierter Selektionserfolge in der Muskelstruktur nach Langzeitselektion über 40 Generationen bei der Labormaus konnten genetische Beziehungen zum Wachstum, zum Proteinansatz und zur Belastbarkeit nachgewiesen werden. Die Ergebnisse demonstrieren die Unvereinbarkeit von guter Ausdauerbelastbarkeit und extremer Muskelfaserhypertrophie.

Die in den Modellversuchen mit Labormäusen gewonnenen Ergebnisse lieferten positive Ansatzpunkte für eine gezielte Bearbeitung der Problematik beim Nutztier. Bei Schweinen sind die genetischen Beziehungen zwischen der Muskelstruktur und der Fleischqualität von besonderem Interesse. Die mehrfach in der Literatur gefundenen Zusammenhänge zwischen beiden Komplexen konnten mit den Ergebnissen eines Experiments zum Einfluß der Selektion nach Merkmalen der Muskelstruktur des *M. longissimus* auf Belastungsempfindlichkeit und Fleischbeschaffenheit beim Schwein größtenteils bestätigt werden (WICKE u.a., 1991). Eine divergente Selektion nach Merkmalen der Muskelstruktur führte bereits nach 3 Generationen zu beachtlichen Veränderungen in der Belastungsempfindlichkeit und Fleischbeschaffenheit. In der Selektionsvariante mit geringem Faserdurchmesser und geringem Anteil weißer Fasern nahm die Frequenz der halothanpositiven Reagenten von Generation zu Generation ab, in der Variante mit großem Faserdurchmesser und hohem Anteil weißer Muskelfasern nahm sie zu.

Dieses Ergebnis unterstreicht den ursächlichen Zusammenhang zwischen der Struktur der Muskulatur und deren Belastbarkeit.

Die Berechnung der phänotypischen Korrelationskoeffizienten zwischen Mikrostrukturmerkmalen und Fleischbeschaffenheitskriterien ergab, daß zwischen dem Fasertypenprofil und den Kriterien der Fleischbeschaffenheit nur niedrige Beziehungen bestehen (Tab. 3).

Die ermittelten einfachen linearen Korrelationskoeffizienten zeigen in der Tendenz an, daß mit steigendem Anteil glykolytischer Fasern eine Verschlechterung des pH₁ ($r=0,2$) sowie eine Erhöhung der Farbhelligkeit ($r = 0,2$) einhergeht. Demgegenüber ist bei einem höheren Anteil oxidativer Fasern auch mit verbesserter Fleischbeschaffenheit zu rechnen. Dieser Zusammenhang wird von zahlreichen Autoren postuliert, wobei eine große Schwankungsbreite für die in der Literatur angegebenen Korrelationskoeffizienten ($r=0,0...0,8$) zu verzeichnen ist. Ursachen dafür sind in unterschiedlichen Definitionen der Fleischbeschaffenheit und deren Bestimmungsmethoden sowie in der hohen Beeinflußbarkeit der Fleischbeschaffenheitsmerkmale durch exogene Faktoren zu suchen.

FIEDLER und OTTO (1982), ENDER und REHFELDT (1987) und andere Autoren fanden einen Zusammenhang zwischen dem Faserdurchmesser, besonders dem der weißen Fasern und der Fleischbeschaffenheit. Eine ähnliche Tendenz ergibt sich aus den in Tabelle 3 dargestellten Ergebnissen. Die Korrelationen zwischen dem Dripverlust und dem Faserdurchmesser sind am höchsten ($r=0,5$).

Phänotypische Beziehungen zwischen Muskelfasermerkmalen und der Fleischbeschaffenheit beim Rind sind ebenfalls in der Literatur zu finden und zum Teil widersprüchlich. Bei unseren Untersuchungen an 76 Bullen der Rasse SMR fanden wir nur geringe Zusammenhänge zur Fleischbeschaffenheit. Am höchsten war die Korrelation zwischen Schlachtleistungsmerkmalen z.B. dem Muskelgewicht und der Muskelfasergesamtanzahl ($r=0,48$) (Tab. 4).

Für die populationsgenetische Analyse zur Schätzung der genetischen Beziehungen wurden in einem weiteren Experiment mit Schweinen die Merkmale von insgesamt 2.000 Tieren herangezogen (FIEDLER u. DIETL, 1992). Tabelle 5 zeigt die Mittelwerte für acht Merkmale der Muskelfaserstruktur, ihre genetischen und phänotypischen Standardabweichungen sowie die Variationskoeffizienten. Fast alle Merkmale weisen mit Koeffizienten von über 10 % eine für die Selektion ausreichend hohe Variabilität auf. Eine Ausnahme bilden die weißen Muskelfasern, deren Werte für den Durchmesser 7,6 % und für den Anteil nur 3,5 % betragen. Diese geringe phänotypische und genetische Variabilität ist bei der Konstruktion von möglichen Selektionsindizes unbedingt zu berücksichtigen.

Die Erblichkeitskoeffizienten, wie sie mit dem Verfahren der Varianz- und Kovarianzanalyse geschätzt wurden, liegen für die Muskelstrukturmerkmale zwischen 0,22 und 0,65 und sind mit Ergebnissen aus der Literatur gut vergleichbar (STAUN, 1972 - Schwein; LOCNISKAR u.a., 1980 - Geflügel; REHFELDT u.a., 1988 - Labormaus).

Nach Schätzung der genetischen Korrelationskoeffizienten ergaben sich die in Tabelle 6 am Beispiel der Fleischbeschaffenheit dargestellten Zusammenhänge. Die Faserdurchmesser weisen zum Dripverlust die engsten Beziehungen auf. Bei den Faseranteilen zeigt der Anteil weiß den engsten Zusammenhang zur Farbhelligkeit und der Faseranteil rot zum pH-Wert. Zwischen der Fasergesamtanzahl und den Fleischbeschaffenheitskriterien ist die Beziehung sehr gering, dagegen weist der Anteil an Riesenfaser zu allen drei Merkmalen enge Beziehungen auf.

Mit diesen Ergebnissen wird folgender physiologisch-genetischer Zusammenhang deutlich:

Große Faserquerschnitte in den Muskeln wirken sich ungünstig auf das Wasserbindungsvermögen des Fleisches aus. Hohe Anteile an weißen bzw. geringe Anteile an roten Fasern haben ein verringertes oxidatives Potential des Muskels für die Energiegewinnung zur Folge, welches das Anpassungsvermögen der Tiere bei Belastungen einschränkt und post mortem zu ungünstigen Farbhelligkeits- und pH-Werten des Fleisches führt. Ein vermehrtes Auftreten von Riesenfaseren zeigt eine Beeinträchtigung der postmortalen Stoffwechselvorgänge an.

Tiere mit dieser strukturellen Besonderheit sind für die Ausbildung von PSE-Fleisch besonders anfällig.

6. Schlußfolgerungen für die Rinderzüchtung und weitere Grundlagenforschung

- Die Methodik der Probenentnahme, der histologisch-histochemischen Präparationstechnik und der quantitativ-mikroskopischen Muskelfaseranalyse ist soweit entwickelt, daß die Methoden routinemäßig eingesetzt werden können. Die Muskelbiopsie setzt jedoch bei der Anwendung in der Praxis die Akzeptanz seitens des Tierschutzes voraus.

- Die bei den Labormäusen und Schweinen gefundenen phänotypischen und genetischen Beziehungen zwischen den Muskelfaser- und Fleischqualitätsmerkmalen sowie der Belastbarkeit erlauben eine sinnvolle Nutzung in der Schweinezüchtung. Sie sind jedoch nicht ohne weitere Untersuchungen auf das Rind übertragbar.

- Die Fleischqualität beim Rind wird weniger durch die Muskelfasergröße und -typenzusammensetzung bestimmt, sondern hauptsächlich durch die mikrostrukturellen Komponenten intramuskuläres Fett (Marmorierung) und Bindegewebe, also Saftigkeit, Geschmack und Zartheit. Zu diesen Komplexen sind mikrostrukturelle Grundlagenuntersuchungen zukünftig erforderlich.

- Die Erhöhung des Fleischanteils im Schlachtkörper kann, wenn nicht durch exogene Wachstumsstimulation erwünscht, durch Erhöhung der Gesamtanzahl Muskelfasern erreicht werden.

Da die Gesamtanzahl am lebenden Tier zur Zeit noch nicht bestimmbar und damit züchterisch beeinflussbar ist, sollte die Regulation durch endogene Faktoren, beginnend in der Myogenese, in weiteren Grundlagenuntersuchungen erforscht werden.

TABLE 4: Muscle structure characteristics of *M. semitendinosus* in various cattle breeds
Biopsy at the 400th day of life

	Simmental	Galloway	Holstein	Black-peid-cattle
	n = 6	n = 8	n = 7	n = 7
Diameter of muscle fibres (µm)				
white	89,6 7,7	81,0 6,7	70,1 6,0	65,0 5,1
Intermediate	71,2 6,2	69,5 10,0	56,3 7,8	52,7 6,9
red	74,0 6,3	60,6 5,9	60,2 7,7	50,9 6,3
Frequency of muscle fibres (%)				
white	75,7 3,6	67,8 7,0	75,0 4,2	70,7 4,1
Intermediate	13,5 4,6	16,8 6,5	14,2 4,0	17,1 3,8
red	10,1 5,5	15,5 3,8	10,9 3,8	12,1 4,1

TABLE 2 : Phenotypic (S_p) and genetic variance (S_g), heritability (h^2) and proportion of the maternal component of variance (δ^2_{um}/δ^2_p) for growth and muscle structure characteristics in laboratory mice

	$\bar{x}$	$S_p(\%)$	$S_g(\%)$	h^2	δ^2_{um}/δ^2_p
Body weight - 42 d	37,2 g	10,9	6,6	0,37	0,42
Lower leg weight	0,73 g	13,0	5,7	0,19	0,35
Muscle volume	6,17 mm ³	23,7	11,5	0,23	0,16
Muscle cross sectional area	1,46 mm ²	22,6	11,0	0,24	0,12
Total muscle fibre number	1113	18,9	9,3	0,24	0,17
Muscle fibre area	1321 µm ²	17,8	8,2	0,21	0,12
No. of animals: 400 fathers / 2500 sons					

TABLE 3: Phenotypic correlation coefficients between muscle structure characteristics and meat quality parameters with regard to different biopsy terms in pigs

	Drip loss	Colour	ph Value
Diameter of red fibres	a 0,09 b 0,50 ⁺	0,11 0,06	-0,45 ⁺ -0,29 ⁺
Diameter of interm. fibres	a - 0,02 b 0,46 ⁺	0,10 0,03	-0,36 ⁺ -0,27 ⁺
Diameter of white fibres	a -0,04 b 0,46 ⁺	-0,05 -0,04	-0,24 -0,14
Frequency of red fibres	a -0,14 b -0,04	-0,16 -0,29 ⁺	0,23 0,29 ⁺
Frequency of interm. fibres	a 0,33 ⁺ b 0,02	0,13 0,01	-0,03 0,01
Frequency of white fibres	a -0,10 b 0,03	0,03 0,25	-0,21 -0,25
a = Biopsy (100 days; n = 47) b = Biopsy (198 days; n = 59)			
Correlation coefficients $r > 0.27$ are significant different from 0 (-)			

TABLE 4 : Phenotypic correlation coefficients between muscle structure characteristics, carcass traits and meat quality parameters in cattle (n = 76)

	Diameter		Frequency	Total fibre number
	white	red	white (%)	
Carcass weight	0,11	0,22	0,02	0,38 ⁺
Round of beef weight	0,03	0,12	0,05	0,46 ⁺
Muscle weight	0,18	0,23 ⁺	0,05	0,48 ⁺
Muscle gross sectional area	0,20	0,30 ⁺	0,08	0,35 ⁺
Colour	-0,06	-0,09	0,37 ⁺	0,08
Water-binding-capacity	0,33 ⁺	0,09	-0,09	-0,13
Driploss	0,22	0,12	-0,01	-0,13
Tenderness	0,13	0,01	0,13	0,06
Correlation coefficients $r > 0,22$ are significant different from 0 (+)				

TABLE 5: Phenotypic and genetic parameters of muscle structure in pigs

	$\bar{x}$	Sg	Sg(%)	Sp	Sp(%)
Diameter of red fibres, μm	58,7	3,8	15,0	10,0	17,1
Diameter of intermed. fibres, μm	58,2	7,2	12,4	9,9	16,9
Diameter of white fibres, μm	72,8	5,5	7,6	9,9	13,6
Frequency of red fibres, %	11,1	2,3	20,7	3,5	31,6
Frequency of intermed. fibres, %	11,5	1,9	16,5	3,6	31,3
Frequency of white fibres, %	77,4	2,7	3,5	4,5	5,9
Frequency of giant fibres, %	0,13	0,09	69,2	0,16	123,4
Total fibre number	1042300	178116	17,1	269872	25,9

TABLE 6: Genetic correlations between muscle structure traits and meat quality parameters in pigs of 185 days of age

	Drip loss	Colour	ph-Value
Diameter of red fibres	0,25	0,22	0,10
Diameter of intermed. fibres	0,24	0,22	0,03
Diameter of white fibres	0,59	0,12	-0,20
Frequency of red fibres	-0,17	-0,41	0,53
Frequency of interm. fibres	0,29	-0,41	-0,22
Frequency of white fibres	-0,16	0,54	-0,20
Frequency of giant fibres	0,49	0,37	-0,55
Total fibre number	-0,19	-0,09	0,08

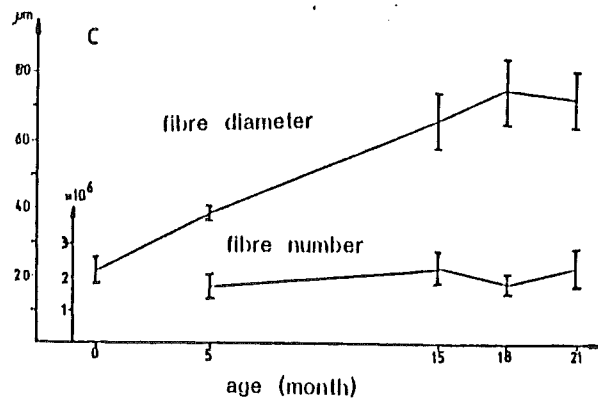
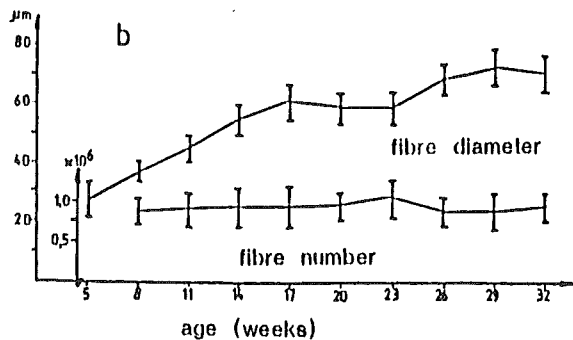
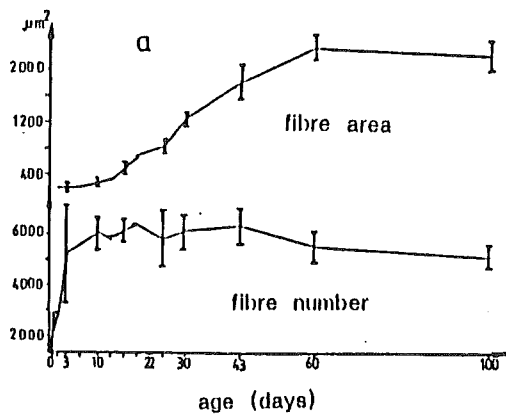


Fig. 7

Changes of muscle fibre diameter and total number of muscle fibres during growth

- a) mice
- b) pig
- c) cattle

M. rectus femoris
M. longissimus
M. semitendinosus

Fig. 8: Changes of muscle fibre diameter during growth
Swine and cattle in comparison

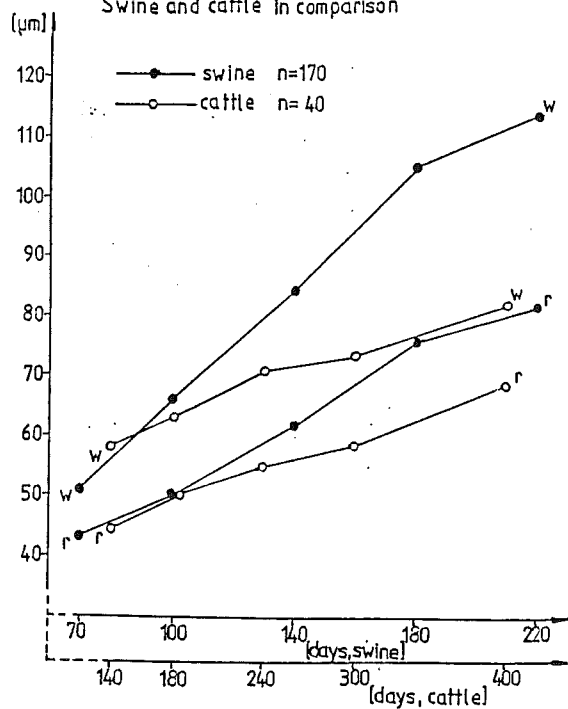


Fig. 9: Changes of muscle fibre type frequency during growth
Swine and cattle in comparison

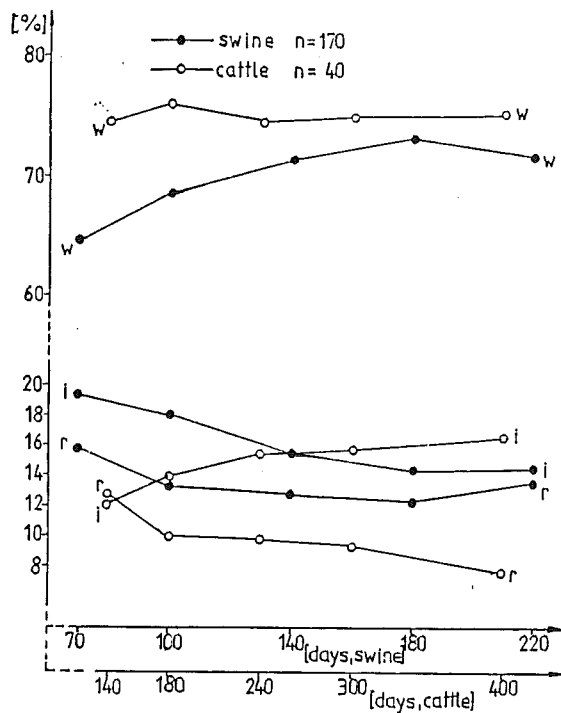


Fig. 4. Changes of muscle fibre diameter during growth in various cattle breeds

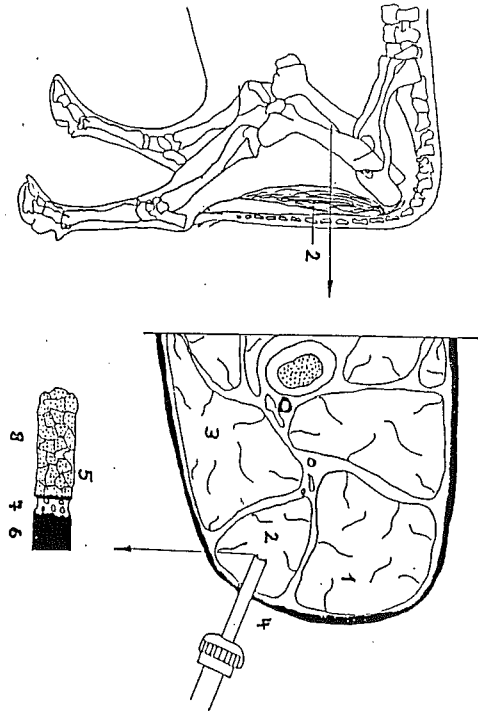
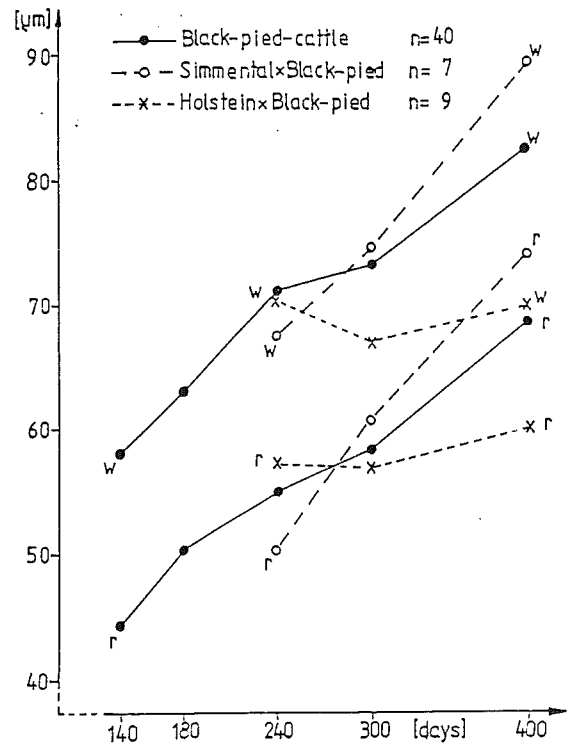


Fig. 4. Shot biopsy of cattle-anatomical position of M.semitendinosus and biopsy sample 1 M.semitendinosus, 2 M.semitendinosus, 3, M.biceps femoris, 4 biopsy tube, 5 biopsy sample, 6 hide, 7 subcutaneous fat, 8 muscle

Fig. 12: Changes of the muscle fiber diameters during growth under the influence of RALGRO

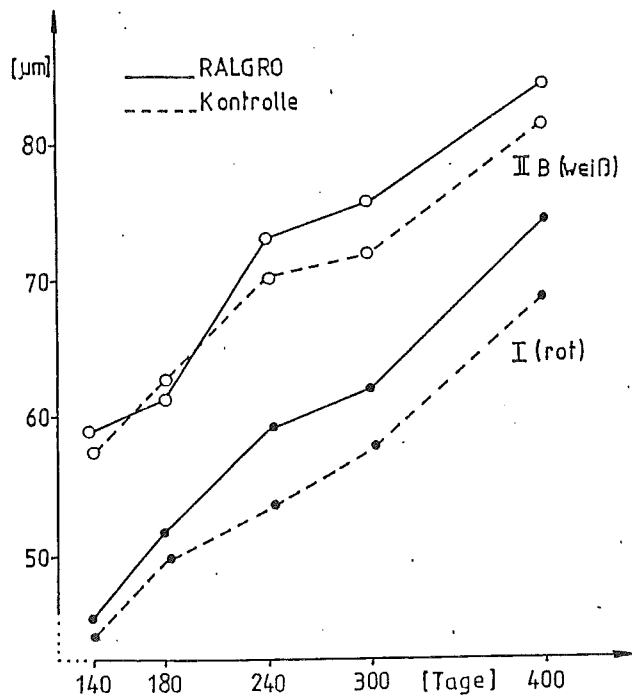


Fig. 13: Changes of the composition of the types of the muscle fibers

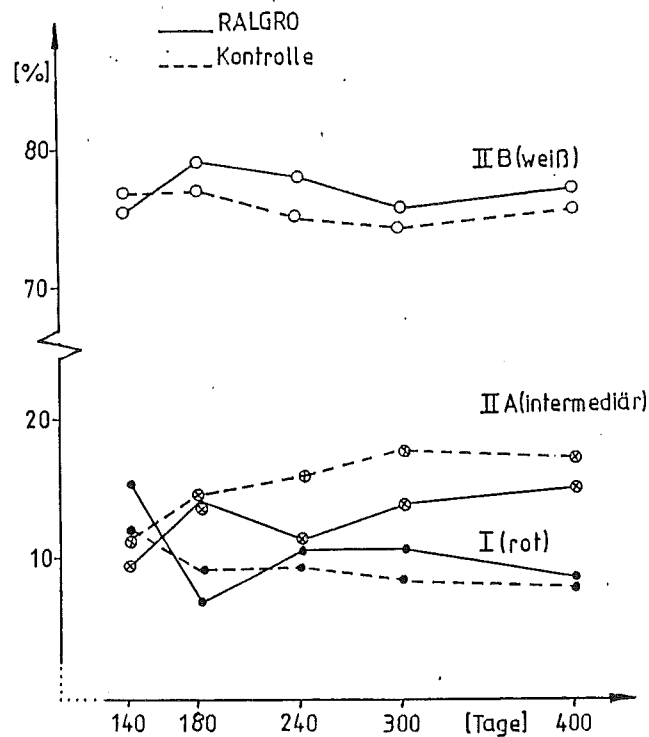


Fig. 14: Growth-conditioned changes of the number of nuclei per muscle fiber and per muscle fiber surface influenced by RALGRO

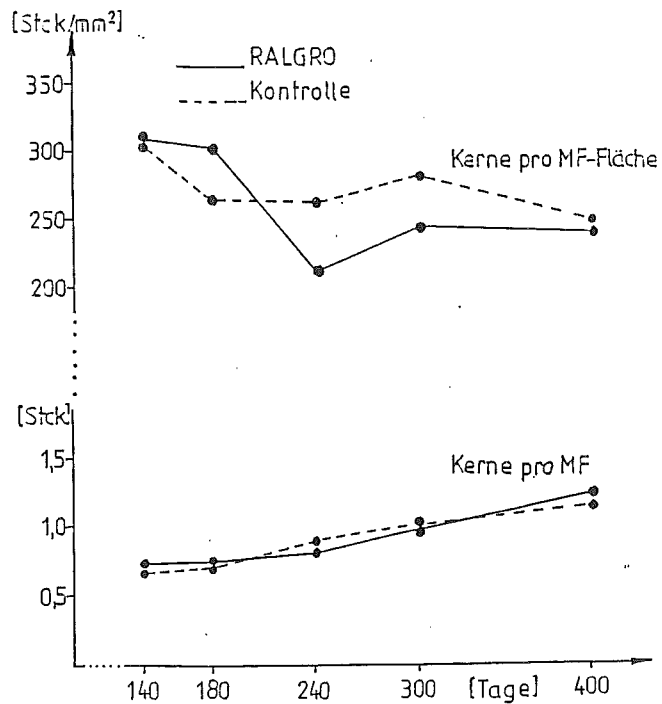


Fig. 15: Changes of sarcomere length during growth influenced by RALGRO

Veränderung der Sarkomerenlänge während des Wachstums unter dem Einfluß von RALGRO

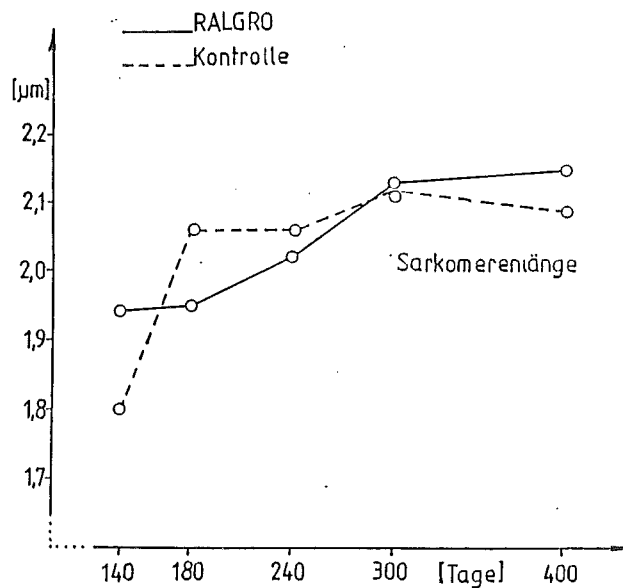


Fig. 16: Changes of fat cell diameters

