

Veränderungen der Mikrostruktur des Muskelgewebes bei Labormäusen, Rindern und Schweinen während des Wachstums

Changes in Muscle Microstructure in Laboratory Mice Cattle and Pigs During Growth

CHARLOTTE REHFELDT, ILSE FIEDLER und J. WEGNER

Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock
der Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR
(Direktor OVR Prof. Dr. sc. K. ROTHE)

(Eingegangen am 11. September 1986)

Mit 6 Abbildungen

Summary

The changes of number, size and types of muscle fibres during growth have been examined by histological methods using muscles of laboratory mice, pigs and cattle. Postnatal growth of muscle was found to be due generally to the hypertrophy of fibres. The total fibre number remained approximately constant. Shortly after birth there were differences between the various species, probably due to maturity of the animals. In laboratory mice fibre number still increased immediately after birth being in contrast to pig and cattle. In pigs and mice all muscle fibres still belonged to the oxidative type at birth. In cattle differentiation of fibre types was already visible at this time. In the muscle of all 3 species the percentage of white glycolytic fibres distinctly increased with growth. These histological characteristics are important factors that determine growth and quality of muscle.

Zusammenfassung

Die Veränderungen von Muskelfaseranzahl, -dicke und -typenverteilung während des Wachstums wurden an Muskeln von Labormäusen, Rindern und Schweinen mit Hilfe histologischer Methoden untersucht. Das postnatale Wachstum ist bei allen drei Tierarten im wesentlichen auf die Hypertrophie der Muskelfasern zurückzuführen. Die Muskelfasergesamtanzahl blieb während des postnatalen Wachstums annähernd konstant. Kurz nach der Geburt ergaben sich Unterschiede zwischen den Tierarten, die wahrscheinlich reifebedingt sind. Bei den Labormäusen nahm die Faseranzahl im Gegensatz zu Schwein und Rind noch zu. Bei Schweinen und Mäusen gehörten bei der Geburt noch alle Fasern dem oxidativen Typ an, während beim Rind die Differenzierung der Fasertypen schon sichtbar war. In den Muskeln aller drei Tierarten nahm der Anteil der weißen, glykolytischen Fasern mit dem Wachstum deutlich zu. Die ermittelten histologischen Parameter sind wichtige Faktoren des Wachstums und der Qualität der Muskulatur.

Einleitung

Das Wachstum der Skelettmuskulatur ist ein entscheidender Bestandteil der gesamten Wachstumsleistung eines Tieres. In den Komplex der Tierproduktionsforschung sind die biologischen Grundlagen des Muskelwachstums sinnvoll eingeordnet, denn sie bilden

die Basis für die Realisierung der tierischen Leistung „Fleisch“. Wichtigste Struktur- und Funktionselemente der Muskulatur und damit des Fleisches sind die Skelettmuskelfasern. Deshalb wurde dem Problem der Mikrostruktur des Muskels während des Wachstums in zahlreichen Untersuchungen Beachtung geschenkt (HEGARTY et al. 1973, GOLDSPIK 1974, SWATLAND 1977, 1978, 1980, BURLEIGH 1980, SALOMON et al. 1983).

Besondere Aufmerksamkeit verdienen die Untersuchungen über die Heterogenität der Skelettmuskeln, denn vom Anteil der verschiedenen Fasertypen, die sich in kontraktilen und metabolischen Eigenschaften unterscheiden, sind Muskelfunktion und Fleischqualität abhängig (ANDERSEN et al. 1975, CASSENS et al. 1975, KLOSOWSKA 1984, FIEDLER und ENDER 1984).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung beinhaltet die Charakterisierung des Muskelfaserwachstums bei Labormäusen, Rindern und Schweinen anhand der quantitativ-mikroskopischen Merkmale Faserdicke, Faseranzahl und Fasertypenverteilung. Dieses bildet wiederum eine wichtige Voraussetzung für eine gezielte praktische Anwendung der Mikrostrukturmerkmale zur Erkennung und Verbesserung von Fleischansatz und Fleischbeschaffenheit.

Material und Methode

Das Tiermaterial für die histologischen Untersuchungen bestand aus 124 Labormäusen des Auszuchtstammes FZT: Du, 250 SMR-Rindern sowie 286 Schweinen der Kreuzung (Landrasse $\times$ Edelschwein) $\times$ Linie 150. Die Entnahme der Muskelproben erfolgte 5 min bzw. 24 h post mortem am *M. longissimus* (Schwein) und *M. semitendinosus* (Rind) zu verschiedenen Zeitpunkten des postnatalen Wachstums. Bei den Mäusen wurde der vollständige *M. rectus femoris* herauspräpariert. Nach dem Einfrieren der Proben in flüssigem Stickstoff wurden mit dem Cryostatmikrotom bei -20°C Querschnitte von $14\text{ }\mu\text{m}$ Dicke hergestellt. Die Klassifizierung der Muskelfasertypen erfolgte anhand des histochemischen Nachweises der NADH-TR (STEIN und PADYKULA 1962). Als Maß für die Muskelfaserdicke diente bei Rindern und Schweinen der mit dem halbautomatischen Meßgerät MFA 1 (BEYERSDORFER et al. 1985) ermittelte Durchmesser. Die Muskelfasergesamtanzahl wurde durch Multiplikation der Anzahl Fasern pro mm^2 mit der jeweiligen Muskelfläche errechnet. Bei den Mäusen ergab sich die Faseranzahl aus der direkten Zählung aller Fasern eines Muskelquerschnittes, die Faserdicke aus der planimetrischen Flächenbestimmung von 100 Einzelfasern. Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach der „Verfahrensbibliothek Versuchsplanung und -auswertung“ (RASCH et al. 1978) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$.

Ergebnisse und Diskussion

Während des postnatalen Wachstums findet eine Hypertrophie der Muskelfasern statt, während die Gesamtanzahl an Fasern im wesentlichen konstant bleibt, wie es aus den Abb. 1a, b, c ersichtlich ist. Dieses Ergebnis zeigte sich für die Muskeln aller drei untersuchten Tierarten. Im *M. rectus femoris* der Mäuse ist jedoch in den ersten Lebenstagen bei fast unverändertem Muskelquerschnitt noch eine Steigerung der Faseranzahl zu beobachten, die als Ausdehnung der fetalen Muskeldifferenzierung anzusehen ist (REHFELDT und FIEDLER 1984).

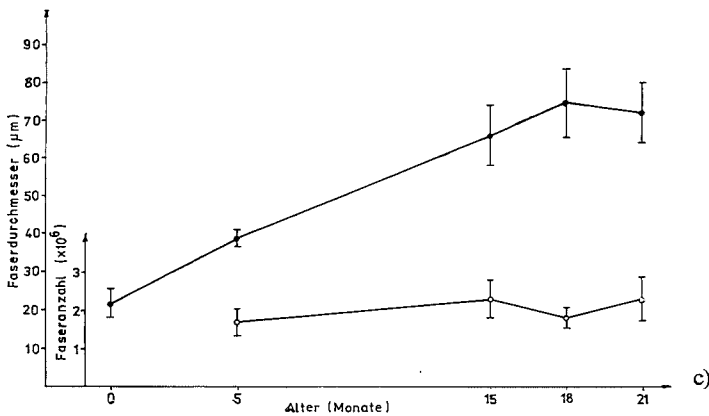
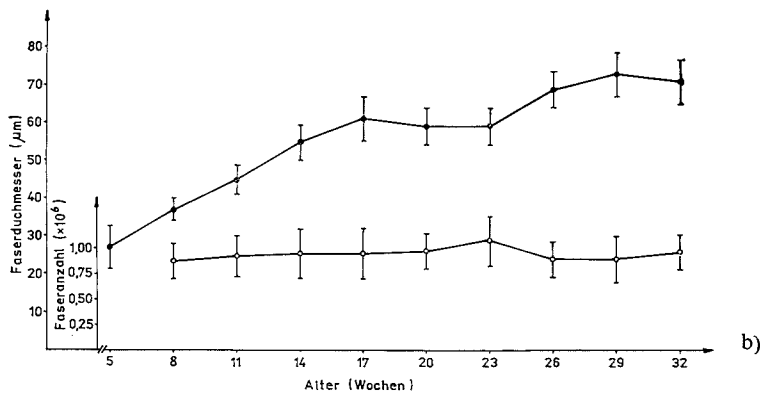
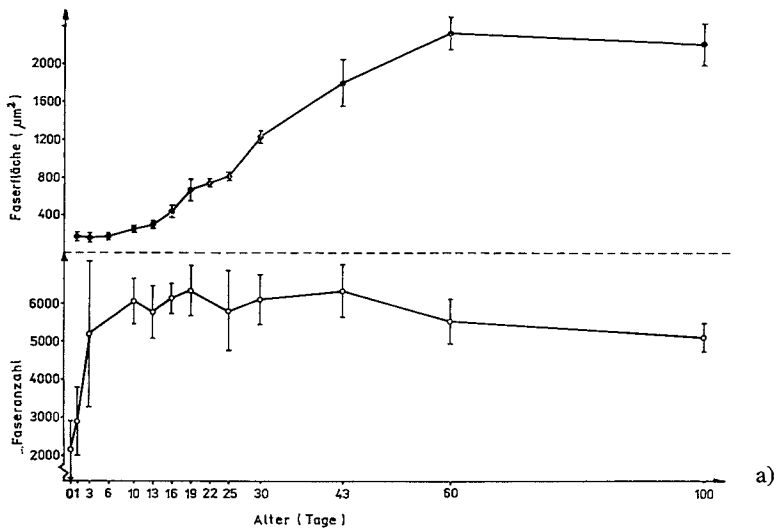


Abb. 1. Entwicklung der Faserdicke und Fasergesamtanzahl während des Wachstums

- a) Labormaus, *M. rectus femoris*
 b) Schwein, *M. longissimus*
 c) Rind, *M. semitendinosus*

Nach einer Phase der intensiven Hypertrophie der Fasern erfolgt der Übergang in ein Plateau, der bei den Mäusen etwa im Alter von 60 Tagen, beim Schwein etwa bei 26 Wochen und beim Rind etwa im Alter von 18 Monaten stattfindet.

Damit ist offensichtlich die physiologische Grenze des Faserwachstums für diese Muskeln erreicht. Im Vergleich zu den erheblichen Unterschieden in der Faseranzahl zwischen den Muskeln der drei Tierarten ist die Muskelfaserdicke der ausgewachsenen Muskeln als annähernd gleich zu betrachten, da sie sich zwischen ca. 50 μm (Maus) und ca. 70 μm (Schwein und Rind) Durchmesser bewegt.

In den Abb. 2a, b, c ist die Entwicklung der Faserdicke getrennt nach Muskelfasertypen dargestellt. Es zeigt sich, daß die weißen Muskelfasern in jeder Altersstufe die größeren Durchmesser aufweisen, wobei für den weißen Fasertyp von Mäusen und Schweinen gleichzeitig eine größere Wachstumsgeschwindigkeit zu beobachten ist. Der wesentlich größere Faserdurchmesser im *M. longissimus* des Schweines ist möglicherweise auf die züchterische Beeinflussung dieses Muskels zurückzuführen (SZENTKUTI et al. 1981), womit sich auch die größeren Fleischbeschaffenheitsmängel beim Schwein gegenüber dem Rind erklären lassen. STAUN (1972) sowie SWATLAND (1982) weisen darauf hin, daß dicke Muskelfasern mit schlechter Fleischbeschaffenheit verbunden sind, und Schweine mit einer hohen Gesamtanzahl Fasern gezüchtet werden sollten, da eine hohe Faseranzahl mit einem langsameren Einzelfaserwachstum korreliert ist.

Aus diesen Ergebnissen ist abzuleiten, daß das normale Wachstum eines Muskels in der Hauptsache durch die Hypertrophie seiner Fasern erfolgt und nicht durch eine Vergrößerung der Faseranzahl. Dieses steht in Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen an Nutztieren sowie Labortieren (WEGNER 1983, FIEDLER 1983, KLOSOWSKA et al. 1985, GOLSDPINK 1972). Hier ist jedoch zu beachten, daß bei Nagern in der frühen Postnatalperiode noch ein Anstieg der Faseranzahl stattfindet, da die Myogenese noch nicht abgeschlossen ist (REHFELDT und FIEDLER 1984). Tierartspezifische Differenzen in der Muskelgröße werden offensichtlich vorrangig durch die Anzahl der Muskelfasern geprägt, wenn auch die untersuchten Muskeln nicht unmittelbar vergleichbar sind.

Die Abb. 3a, b, c zeigen die Entwicklung des Fasertypenprofils für die Muskeln der drei untersuchten Tierarten. Daraus ist ersichtlich, daß der Anteil an weißen Muskelfasern während des postnatalen Wachstums zunimmt, und der Anteil der roten und intermediären dementsprechend abnimmt.

Der Spezifik der Muskeln entsprechend hat der *M. longissimus* des Schweines im Wachstumsplateau einen relativ hohen Anteil an weißen Fasern (ca. 75%), während im *M. semitendinosus* des Rindes und im *M. rectus femoris* von Labormäusen nur jeweils ca. 65% dem weißen Fasertyp angehören. Diese Zahlen sind mit den Angaben aus der Literatur vergleichbar, die auf demselben Klassifizierungsschema beruhen. Bei Verwendung z.B. des ATPase-Nachweises können andere Verhältnisse auftreten (DAVIES 1972, SZENTKUTI et al. 1978, SUZUKI et al. 1980). Aus den Ergebnissen ist abzuleiten, daß während des Wachstums eine Umwandlung der Fasertypen vom roten über den intermediären zum weißen Typ stattfindet, was eine Verschiebung zum glykolytischen Muskelstoffwechsel bedeutet. Dabei stimmen jeweils die Phasen des intensiven Wachs-

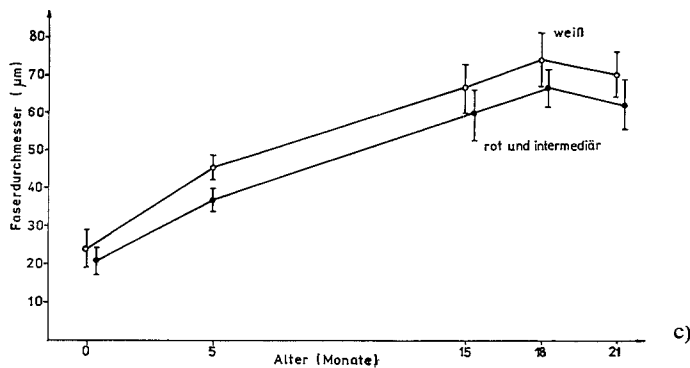
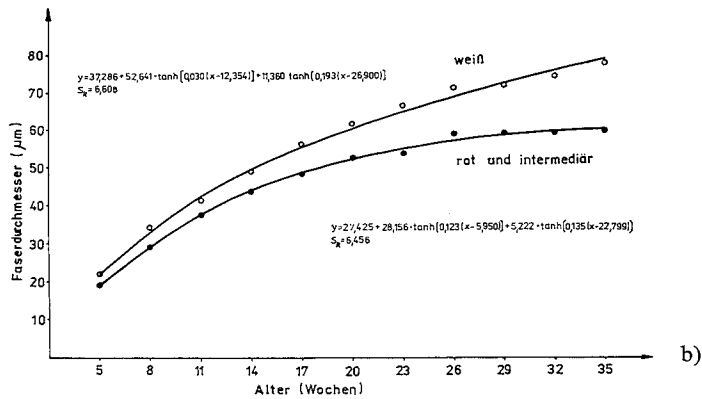
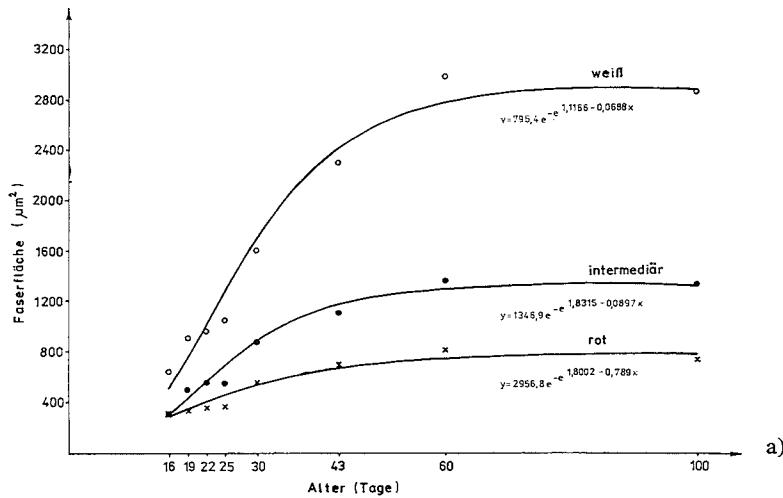
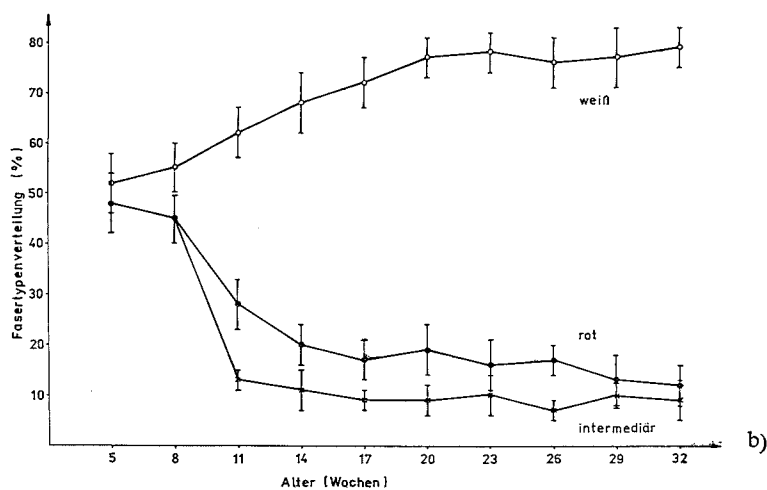
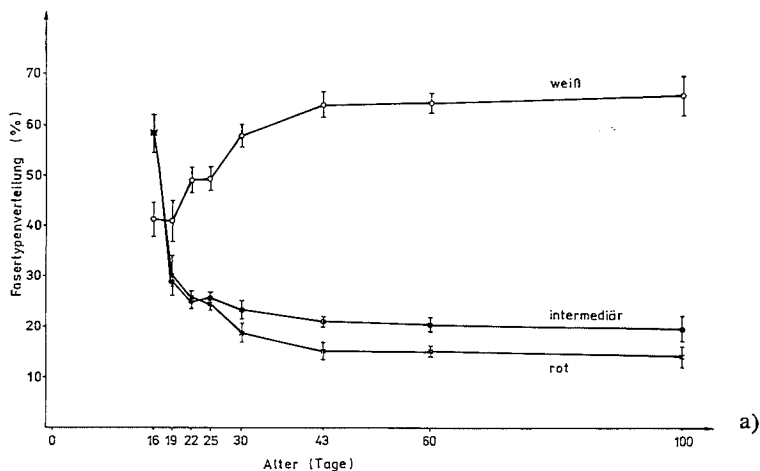


Abb. 2. Entwicklung der Faserdicke der Muskelfasertypen während des Wachstums

- a) Labormaus, M. rectus femoris
 b) Schwein, M. longissimus
 c) Rind, M. semitendinosus

tums mit den Phasen der Typenumwandlung überein. Diese Tendenz ist auch aus vergleichbaren Untersuchungen anderer Autoren anzuleiten (VAN DEN HENDE et al. 1972, ASHMORE et al. 1972).

Eine drastische Verschiebung in Richtung des glykolytischen Faseranteils im Vergleich zu Normalwerten während des Wachstums wird im Zusammenhang mit einer Verschlechterung der Fleischeigenschaften gesehen, beim Schwein z.B. in Form von PSE-Fleisch (LINKE 1972, KLOSOWSKA 1984, FIEDLER und ENDER 1984).



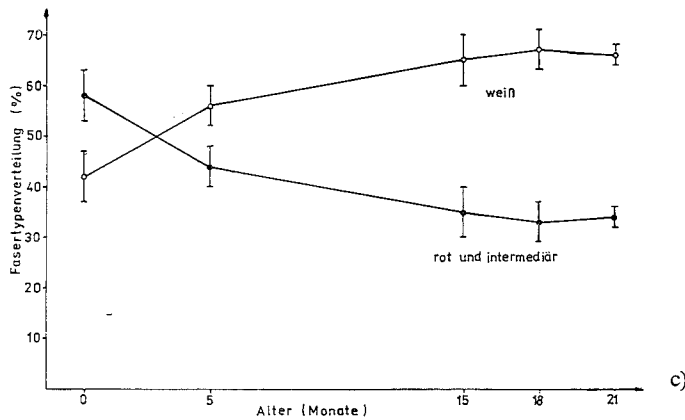


Abb. 3. Entwicklung des Fasertypenprofils während des Wachstums (nach NADH-TR-Nachweis)

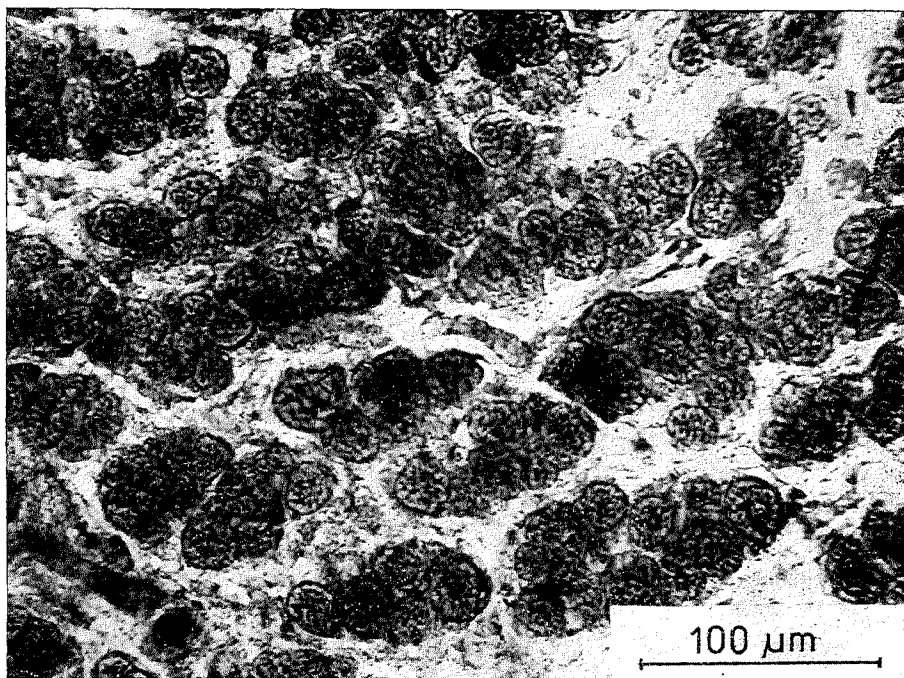
- | | |
|---------------|--------------------------|
| a) Labormaus, | <i>M. rectus femoris</i> |
| b) Schwein, | <i>M. longissimus</i> |
| c) Rind, | <i>M. semitendinosus</i> |

Die Abb. 4 bis 6 zeigen die Veränderungen des mikroskopischen Querschnittsbildes in den untersuchten Muskeln. Während perinatal beim Rind bereits ein histochemischer Nachweis von Fasertypen möglich ist und ein Typenverhältnis von 50:50 gefunden wird (Abb. 6a), sind bei Mäusen (Abb. 4a) und Schweinen zu diesem Zeitpunkt noch alle Fasern oxidativ. Dieses Ergebnis dokumentiert die zum Zeitpunkt der Geburt höhere physiologische Reife der Muskulatur des Rindes im Vergleich zu Maus und Schwein. Die Muskeln der Schweine und Mäuse bestehen im perinatalen Zeitraum aus Bündeln von lockerem Aufbau mit einem durchschnittlichen Faserdurchmesser um 14 μm .

Das Fasertypenprofil bei den Mäusen im Alter von 16 Tagen und beim Schwein im Alter von 5 Wochen entspricht etwa dem des Rindermuskels bei der Geburt (Abb. 4b, 5a, 6a).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß das Muskelfaserwachstum bei Mäusen, Schweinen und Rindern einen charakteristischen ähnlichen Verlauf zeigt, der jedoch für jede Tierart Besonderheiten aufweist. Tierartspezifische Differenzen in der Muskelgröße werden vor allem durch Unterschiede in der Faseranzahl bestimmt. Nach der Beurteilung der Muskelstruktur besitzen Rinder zum Zeitpunkt der Geburt eine eindeutig höhere physiologische Reife als Mäuse oder Schweine, was mit ihrem Status als Nestflüchter bzw. Nesthocker in Übereinstimmung steht. Biologische Grundlagenkenntnisse über den normalen Verlauf des Muskelfaserwachstums sind eine Voraussetzung, um Möglichkeiten für eine aktive Einflußnahme auf die Muskelstruktur im Sinne einer optimalen Fleischproduktion zu schaffen.

a)



b)

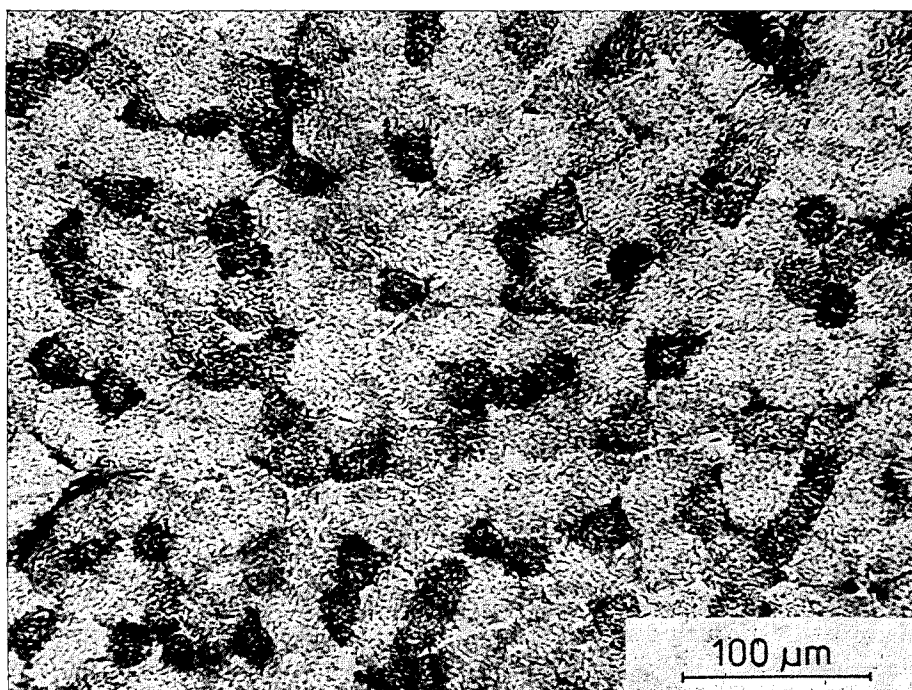
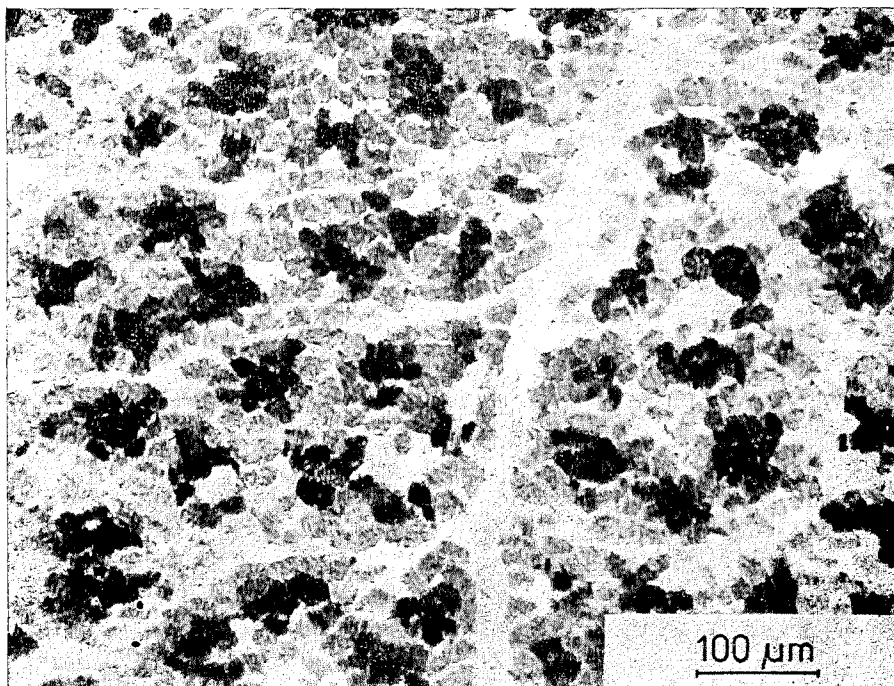


Abb. 4. Histochemischer Nachweis der NADH-Tetrazoliumreduktase im *M. rectus femoris* der Labormaus

a) 1. Lebenstag, hohe Enzymaktivität in allen Fasern

b) 16. Lebenstag, drei Fasertypen

a)



b)

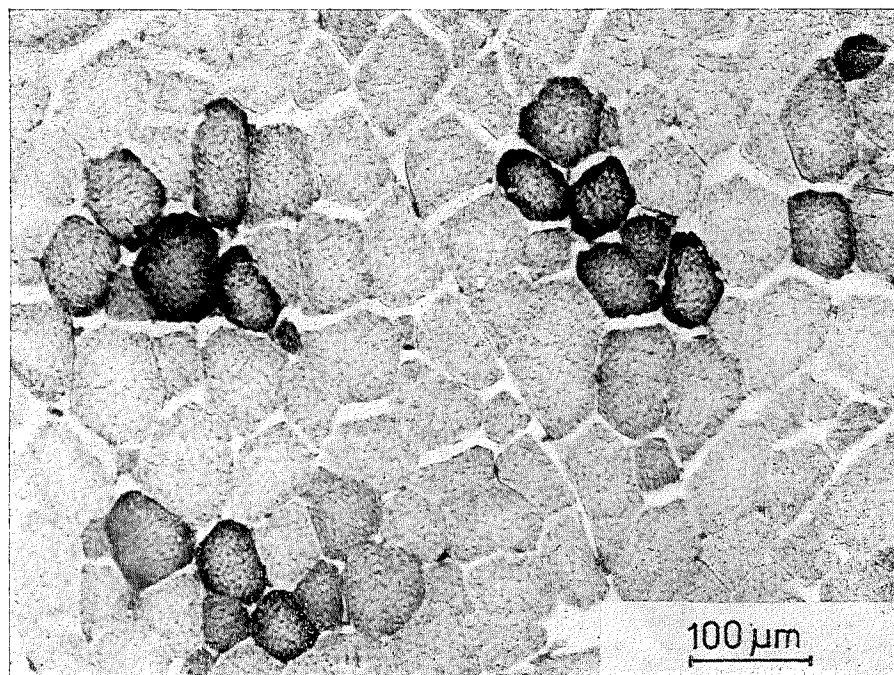


Abb. 5. Histochemischer Nachweis der NADH-Tetrazoliumreduktase im *M. longissimus dorsi* des Schweines

a) 5 Wochen, zwei Fasertypen

b) 32 Wochen, drei Fasertypen

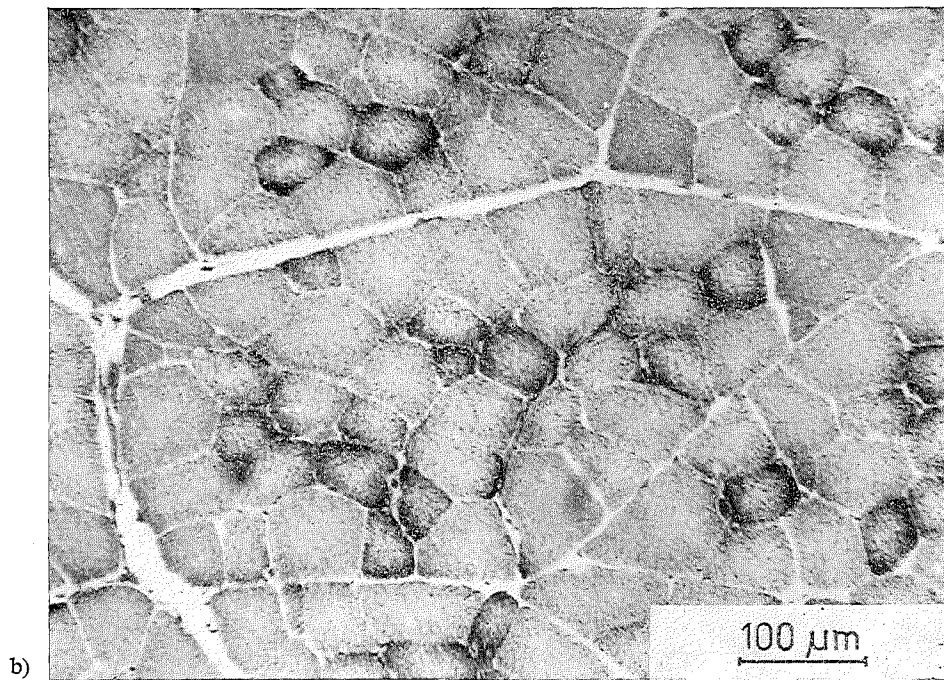
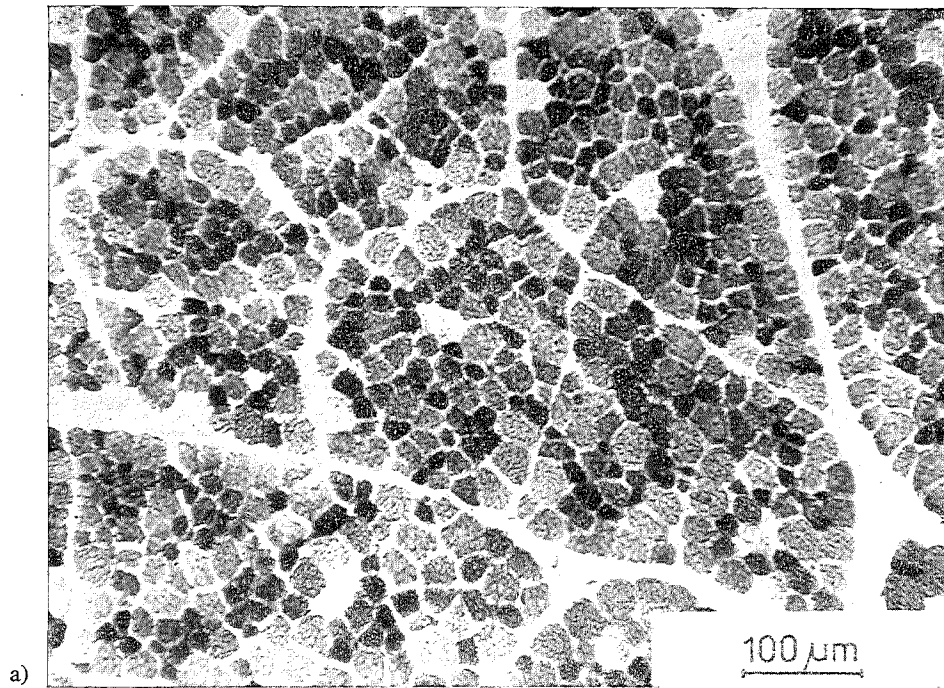


Abb. 6. Histochemischer Nachweis der NADH-Tetrazoliumreduktase im M. semitendinosus des Rindes

a) 1. Lebenstag, drei Fasertypen

b) 18 Monate altes Tier

Literatur

- ANDERSEN, I. D., F. G. PARRISH and D. G. TOPEL: Histochemical and palatability properties of M. longissimus from stress-resistant and stress-susceptible porcine animals. *J. Anim. Sci.* **41** (1975) 1600–1610.
- ASHMORE, C. R., G. TOMPKINS and L. DOERR: Postnatal development of muscle fiber types in domestic animals. *J. Anim. Sci.* **34** (1972) 37–41.
- BEYERSDORFER, G., M. OHLERICH und J. WEGNER: Ein halbautomatisches Meßgerät zur Morphometrie von Muskelfasern im mikroskopischen Querschnittpräparat. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **99** (1985) 671–675.
- BURLEIGH, I. G.: Growth curves in muscle nucleic acid and protein: Problems of interpretation at the level of the muscle cell. In: *Growth in Animals*. Ed.: T. L. J. LAWRENCE. London/Boston: Butterworths 1980, 101–136.
- CASSENS, R. G., D. N. MARPLE and G. EIKELNBOM: Animal physiology and meat quality. *Adv. Food Res.* **21** (1975) 71–155.
- DAVIES, A. S.: Postnatal changes in the histochemical fibre types of porcine skeletal muscle. *J. Anat.* **113** (1972) 213–240.
- FIEDLER, I.: Postnatales Wachstum der Muskelfasern beim Schwein. Tag.-Ber., Akad. Landw.-Wiss., DDR, Berlin **209** (1983) 87–94.
- FIEDLER, I., und K. ENDER: Mikrostrukturmerkmale der Muskulatur in Beziehung zur Fleischbeschaffenheit beim Schwein. *Tierzucht* **38** (1984) 251–252.
- GOLDSPINK, G.: Postembryonic growth and differentiation of striated muscle. In: *The Structure and Function of Muscle* Ed.: G. H. BOURNE V. 1. New York: Academic Press. Inc. 1972, 197–236.
- GOLDSPINK, G.: *Differentiation and Growth of Cells in Vertebrate Tissues*. London: Chapman and Hall Ltd. 1974.
- HEGARTY, P. V. J., L. C. GUNDLACH and C. E. ALLEN: Comparative growth of porcine skeletal muscles using an indirect prediction of muscle fiber number. *Growth*. **37** (1973) 333–344.
- HENDE, C. VAN DEN, E. MUYLLE, W. OYAERT und P. ROOSE: Veränderungen der Kennzeichen der Muskeln beim wachsenden Schwein. *Histochemisches und elektronenmikroskopisches Studium*. *Zbl. Vet. Med. A.* **19** (1972) 102–110.
- KLOSOWSKA, D.: Histological and histochemical characteristics of muscles in pigs, cattle and poultry and their relationship with meat quality. PhD Thesis, BTN, Prac. Wydz. Nauk Przyrod. Bydgoszcz, Serie B **31** (1984).
- KLOSOWSKA, D., B. KLOSOWSKI, I. FIEDLER und J. WEGNER: Veränderungen in der Fasertypenverteilung und Muskelfasergröße im M. longissimus dorsi der Schweine während des Wachstums und Beziehungen zwischen histologischen Merkmalen und Schlachtkörperkriterien. *Arch. Tierzucht* **28** (1985) 171–180.
- LINKE, H.: Histologische Untersuchungen bei wäbrigem, blassem Schweinefleisch. *Fleischwirtschaft* **52** (1972) 493–507.
- RASCH, D., G. HERRENDÖRFER, J. BOCK und K. BUSCH: *Verfahrensbibliothek: Versuchsplanung und -auswertung*. Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag DDR 1978.
- REHFELDT, CH., und I. FIEDLER: Postnatale Entwicklung der Muskelfasern im wachsenden Skelettmuskel der Labormaus. *Arch. exp. Vet. med. Leipzig* **38** (1984) 178–192.
- SALOMON, F. V., G. MICHEL und F. GRUSCHWITZ: Zur Einteilung von Faserkomposition und Faserdurchmesser im M. longissimus des Hausschweines. *Anat. Anz., Jena* **154** (1983) 69.
- STAUN, H.: The nutritional and genetic influence on number and size of muscle fibres and their response to carcass quality in pigs. *World Rev. Anim. Prod.* **3** (1972) 18–26.
- STEIN, J. M., and H. A. PADYKULA: Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. *Amer. J. Anat.* **110** (1962) 103–124.
- SUZUKI, A., and R. G. CASSENS: A histochemical study of myofibre types in muscle of the growing pig. *J. Anim. Sci.* **51** (1980) 1449–1458.

- SWATLAND, H. J.: Histochemical changes during muscle growth in pigs. *Zbl. Vet. Med. A*, **24** (1977) 248–251.
- SWATLAND, H. J.: Longitudinal growth and rate of new sarcomere formation in porcine muscle. *J. Anim. Sci.* **46**, 1 (1978) 118–124.
- SWATLAND, H. J.: Volumetric growth of muscle fibers in ducks. *Growth* **44** (1980) 355–362.
- SWATLAND, H. J.: The challenges of improving meat quality *J. Anim. Sci.* **62** (1982) 15–24.
- SZENTKUTI, L., und R. G. CASSENS: Die Verteilung der Fasertypen I, II A und II B im *M. longissimus dorsi* und *M. semitendinosus* von Schweinen verschiedenen Alters. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **85** (1978) 1–40.
- SZENTKUTI, L., B. NIEMEYER und O. SCHLEGEL: Vergleichende Untersuchungen der Muskelfasertypen mit der Myosin-ATPase Reaktion bei Wild- und Hausschweinen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **88** (1981) 407–410.
- WEGNER, J.: Postnatales Wachstum der Muskelfasern beim Rind. Tag.-Ber., Akad. Landw.-Wiss. DDR, Berlin **209** (1983) 135–142.

Anschrift der Autoren:

Dr. CHARLOTTE REHFELDT

Dr. ILSE FIEDLER

Dr. JOCHEN WEGNER

Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock

Bereich Züchtungsforschung

Dummerstorf (Kreis Rostock), DDR-2551