

## **EVOLUZIONE MIOFIBRILLARE DEI VARI TIPI DI FIBRE MUSCOLARI NEL MUSCOLO “*Longissimus dorsi*” (LD) IN VITELLONI CHIANINI A 13, 20 E 26 MESI, ALLEVATI IN FEED-LOT. CONFRONTO FRA INTERI E CASTRATI**

**Lenzi C. (1), Pirone A. (1), Campodoni G. (2), Preziuso G. (1), Pellegrini S. (1), Fabiani O. (1)**

(1) *Dipartimento Produzioni Animali – Università di Pisa - Viale delle Piagge, 2 - 56100 Pisa, Italia*

(2) *Dipartimento Scienze Zootechniche - Università di Firenze – Via delle Cascine, 5 - 50144 Firenze, Italia*

**RIASSUNTO** - Lo scopo di questa ricerca è stato lo studio dell'evoluzione miofibrillare dei vari tipi di fibre muscolari nel muscolo LD in vitelloni di razza Chianina a 13, 20 e 26 mesi di età, castrati e non, allevati in feed-lot. I dati hanno indicato che: la castrazione ha influenzato tutti i parametri miofibrillari considerati; gli animali a 13 mesi mostrano ancora un'alta percentuale di miofibrille in splitting, mentre a 20 mesi tale percentuale si riduce rimanendo costante fino a 26 mesi; osservando la tendenza della percentuale delle miofibrille in splitting, in funzione dell'età, si è notato che a 13 mesi gli animali castrati mostrano una differenza significativa della divisione miofibrillare, tale differenza a 26 mesi tende a zero. In conclusione, i dati ultrastrutturali confermano le osservazioni sul diverso accrescimento delle masse muscolari negli interi e nei castrati, in ragione della differente spinta ormonale.

**PAROLE CHIAVE:** Chianina, Castrati, Interi, *Longissimus dorsi*, Miofibrille.

### **INTRODUZIONE**

La conoscenza delle caratteristiche istologiche ed ultrastrutturali della fibra muscolare scheletrica, costituisce un parametro importante per caratterizzare la qualità delle carni e per l'impostazione di programmi di allevamento. Molti studi sono stati fatti per determinare l'influenza della nutrizione sulla produzione della carne (Andrews & Orskov, 1970; Ashmore *et al.*, 1972; Johnson *et al.*, 1975). Numerose variabili sono state messe in relazione alla tenerezza, tra queste la quantità di grasso intramuscolare, la lunghezza del sarcomero, il contenuto di collagene, il tipo e le dimensioni delle fibre muscolari e l'attività enzimatica implicata nel post mortem (Whipple *et al.*, 1990). Negli ultimi anni, nel nostro laboratorio sono state effettuate analisi istochimiche ed immunoistochimiche sul tessuto muscolare scheletrico di vitelli di razza Chianina (Tavanti *et al.*, 1994; Cicalò *et al.*, 1995). Contrariamente, non sono presenti studi sull'evoluzione miofibrillare nelle fibre muscolari in relazione al sesso ed al tipo di allevamento. In base a quanto sopra detto, nel presente lavoro è stato effettuato uno studio delle caratteristiche ultrastrutturali del muscolo LD di vitelli di razza chianina castrati ed interi allevati in feed-lot.

### **MATERIALI E METODI**

Sono stati utilizzati 30 maschi di razza Chianina, nati al pascolo ed allevati con le madri fino a circa sei mesi, suddivisi in due gruppi omogenei per peso: i soggetti di un gruppo sono stati sottoposti a castrazione. I due gruppi sono stati allevati in un ampio feed-lot con a disposizione circa 1300 mq a capo, con medesima alimentazione che consisteva in fieno polifita ad libitum ed un mangime concentrato in pellets somministrato in ragione di 0.6 kg di sostanza secca (S.S.) per 100 kg di peso vivo. Nell'ultimo mese prima della macellazione il concentrato è stato portato ad 1 kg di S.S. per 100 kg di peso vivo. Al momento delle mattazioni, avvenute a 13, 20, e 26 mesi di età, veniva prelevato un campione di carne dal muscolo *Longissimus Dorsi* e trattato per la microscopia elettronica secondo il seguente protocollo.

Frammenti di 0,5 mm<sup>3</sup> di muscolo *Longissimus dorsi*, sono stati fissati con una soluzione di paraformaldeide al 4% e glutaraldeide al 2,5% in tampone fosfato 0,1 M pH 7,4, postfissati con tetrossido d'osmio all'1%, disidratati in una serie ascendente di alcool, inclusi in resina epossidica

(Epon Araldite, Fluka Chemie GmbH, Buchs, CH) e sezionati a 60nm. Le sezioni ultrafini sono state osservate e fotografate con un microscopio elettronico a trasmissione (Siemens mod. 102) (Fig. 1). Con un sistema di analisi dell'immagine (IAS of Hesp Tecnology SRC, S.G. Valdarno-AR) sono stati elaborati i preparati ultrastrutturali (Fig. 2) per calcolare, per ogni tipo di fibra muscolare (tipo I, IIA, IIB), i seguenti parametri: percentuale delle miofibrille intere, percentuale delle miofibrille in divisione (splitting), area delle miofibrille intere ed area delle miofibrille in splitting (Tabella 1).

I dati relativi alle percentuali ed alle aree delle miofibrille intere ed in splitting sono stati elaborati con l'analisi della covarianza a tre criteri, utilizzando come covariata la differenza di età tra il singolo soggetto e la media del gruppo di appartenenza. L'andamento della percentuale delle fibre in splitting è stato elaborato con l'analisi della regressione (SAS, 1995).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati di questo lavoro rappresentano il primo studio sull'evoluzione miofibrillare nei diversi tipi di fibre muscolari (tipo I, IIA e IIB) del muscolo LD di vitelli di razza Chianina castrati e non, macellati a 13, 20 e 26 mesi. I dati riportati nella Tabella 1 e rappresentati nella Figura 3 ci permettono di affermare quanto segue:

1) la castrazione ha influenzato tutti i parametri considerati, in particolare la percentuale delle miofibrille intere è significativamente più elevata nei castrati, ciò conferma la minore capacità di sviluppo muscolare in questi soggetti (Campodoni *et al.*, 1997; Preziuso *et al.* 1997). Interessanti sono anche le differenze riscontrate a carico delle aree delle miofibrille, più sviluppate nei soggetti interi;

2) i soggetti a 13 mesi mostrano ancora una buona percentuale di miofibrille in splitting, mentre già a 20 mesi tale spinta è molto ridotta e si mantiene tale fino a 26 mesi. Analogamente si può riscontrare lo stesso andamento per quanto riguarda le aree;

3) per quanto riguarda la percentuale di miofibrille intere possiamo osservare che quelle appartenenti alle fibre muscolari di tipo I e IIA sono significativamente più basse rispetto a quelle di tipo IIB. Mentre per le aree delle miofibrille intere quelle appartenenti alle fibre del tipo I risultano significativamente più piccole rispetto a quelle del tipo IIA e IIB;

4) osservando l'andamento della percentuale di miofibrille in splitting, al variare dell'età, indipendentemente dal tipo di fibra muscolare (Figura 3), si può notare come i soggetti castrati, già a 13 mesi di età mostrino una significativa riduzione della divisione miofibrillare rispetto agli interi. Tale differenza si annulla all'aumentare dell'età, infatti la percentuale delle miofibrille in splitting a 26 mesi tende ad essere uguale nei due gruppi.

In conclusione, i dati ultrastrutturali confermano le osservazioni sul diverso accrescimento delle masse muscolari negli interi e nei castrati, in ragione della differente spinta ormonale.

Figura 1 - Microfotografia di miofibrille in sezione trasversale.

*Figure 1 - Micrograph showing myofibrils in cross section*

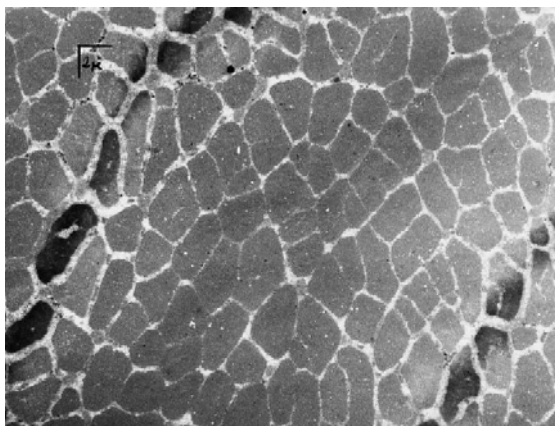


Figura 2 - Elaborazione tramite il programma di analisi dell'immagine della figura 1.  
Miofibrille grigie = miofibrille in splitting  
*Figure 2 - Elaboration by means of image analysis program of figure 1*  
Grey myofibrils = splitting myofibrils.

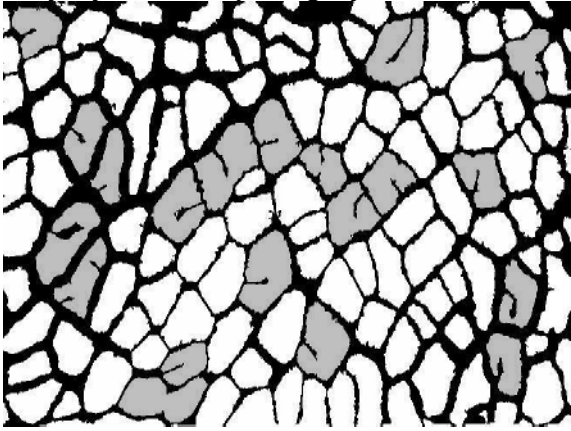


Figura 3 – Andamento al variare dell'età, indipendentemente dal tipo di fibre di appartenenza, della percentuale di miofibrille in splitting.  
*Figure 3 – Evolution as a function of age, independently from fiber type, of the percentage of splitting myofibrils*

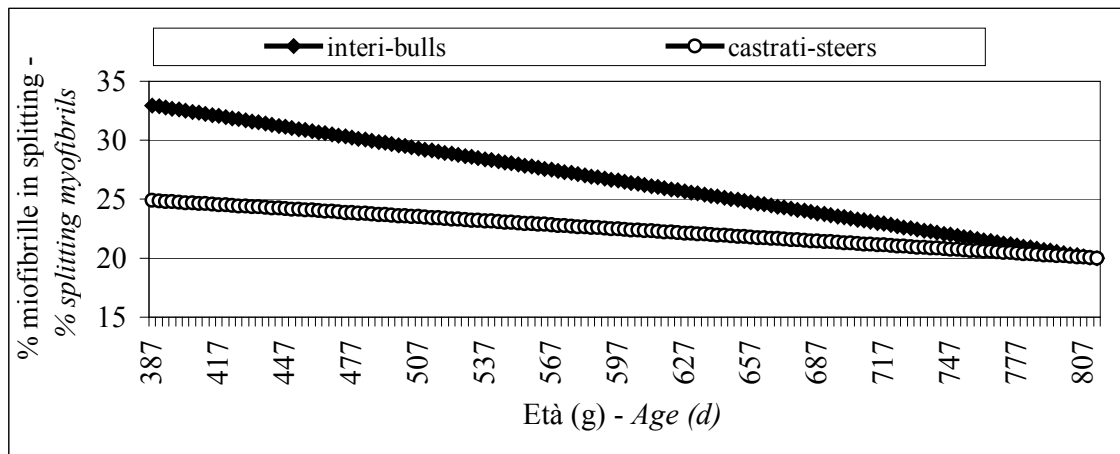


Tabella 1 - Parametri miofibrillari in relazione al sesso, età e tipo di fibre muscolari scheletriche.  
 Table. 1 - Myofibrillar parameters in relation to sex, age, and skeletal muscular fiber types.

	Sesso <i>Sex</i>		Età di macellazione (mesi) <i>Slaughter age (months)</i>			Tipo di fibre <i>Fiber types</i>			D.S.R. <i>R.S.D.</i>
	Interi <i>Bulls</i>	Castrati <i>Steers</i>	13	20	26	I	IIA	IIB	
% miofibrille intere <i>% whole myofibrils</i>	73.48 b	77.97 a	71.53 b	77.83 a	77.82 a	73.13 b	73.99 b	80.05 a	6.78
% miofibrille in divisione <i>% splitting myofibrils</i>	26.18 a	21.98 b	28.47 a	22.07 b	21.69 b	26.71 a	25.80 a	19.72 b	6.75
Area miofibrille intere <i>surface of the whole myofibrils</i>	6.01 a	4.93 b	5.81 a	5.16 b	5.45ab	4.97 b	5.66 a	5.79 a	0.99
Area miofibrille in divisione <i>surface of the splitting myofibrils</i>	10.65 a	8.14 b	10.06 a	8.57 b	9.54ab	8.87	9.81	9.50	2.14

a, b: P ≤ 0,05

#### BIBLIOGRAFIA – REFERENCES

- Andrews R.P., Orskov E.R., 1970, J.Agr.Sci.Camb., 75:19-26.
- Ashmore C.R., Tompkins G., Doer R.L., 1972, J.Anim.Sci., 34:37-41.
- Campodoni G., Preziuso G., Berni P., Pellegrini S., 1997, Journal of Food Science and Nutrition, anno 26 n.3-4, 37-50.
- Cicalò A., Tavanti M., Casarosa L., Fabiani O., Pellegrini S., 1995, Proceedings of the 6<sup>th</sup> Zavrnik memorial meeting, 79-82.
- Johnson D.M., Stewart D.F., Moody W.G., Boling J.E., Kemp J.D., 1975, J.Anim.Sci., 40:613-620.
- Preziuso G., Campodoni G., Berni P., Pellegrini S., 1997, Journal of Food Science and Nutrition, anno 26 n.3-4, 51-58.
- Tavanti M., Fabiani O., Lenzi C., Cicalò A., Pellegrini S., 1994, Proceedings of It. Beef Cattle Contest (Perugia, 16-18 Sett. 1994), 296-297.
- Whipple G., Koohmaraie M., Dikeman M.E., Crouse J.D., 1990, J.Anim.Sci., 68:4193-4199.

## **MYOFIBRILLAR EVOLUTION OF DIFFERENT TYPES OF MUSCULAR FIBERS IN “*Longissimus dorsi*” (LD) OF CHIANINA CATTLE BRED IN FEED-LOT AND SLAUGHTERED AT 13, 20 AND 26 MONTHS. COMPARISON BETWEEN BULLS AND STEERS**

**Lenzi C. (1), Pirone A. (1), Campodoni G. (2), Preziuso G. (1), Pellegrini S. (1), Fabiani O. (1)**

**ABSTRACT** - The aim of this research was to study the myofibrillar evolution of different types of muscular fibers in *Longissimus dorsi* of Chianina steers and bulls reared in feed-lot and slaughtered at 13, 20 and 26 months. Data indicated that castration influenced all the considered parameters; the animals at 13 months still showed an high percentage of splitting myofibrils. At 20 months this percentage was reduced and it remained constant up to 26 months; observing the trend of the splitting myofibrils percentage as a function of age, we noted that at 13 months castrated animals showed a significant difference the percentage of the myofibrillar division comparison of that stated for bulls. This difference tended to zero with the increasing of age. In conclusion, the ultrastructural data confirmed the findings on the different muscular growth in the castrated and entire, owing to the hormonal action.

**KEYWORDS:** Chianina, Steers, Bulls, *Longissimus dorsi*, Myofibrils.

### **INTRODUCTION**

The knowledge of the ultrastructural and histological traits of the skeletal muscular fibers represent an important parameter to characterize the meats quality and to plan breed programs.

Many studies have been conducted to determine the influence of nutrition on the production of meat (Andrews & Orskov, 1970; Ashmore *et al.*, 1972; Johnson *et al.*, 1975). Numerous variables have been related to tenderness, such as amount of intramuscular fat, sarcomere length, collagen content, size and type of muscle fibers, and enzymatic activity involved in post mortem aging (Whipple *et al.*, 1990). On the contrary, researches about myofibrillar evolution in the muscular fibers in relation to sex and breed type are not present in literature.

During the last years, in our laboratory histochemical and immunohistochemical investigations on the skeletal muscular tissue of Chianina breed calves castrated or not, were performed (Tavanti *et al.*, 1994; Cicalò *et al.*, 1995). In the light of background mentioned above, the present investigation was undertaken to study the ultrastructural features of the LD of Chianina bulls and steers to evaluate the correlation between the myofibrillar evolution and the effect of castration.

### **MATERIALS AND METHODS**

The experimental animals were 30 Chianina males, dam-reared to the age of natural weaning (6 months) on natural pasture; subsequently they were subdivided in two homogeneous weight groups: veals of one group was castrated. The two groups were reared in feed-lot and they received the same diet, based on ad libitum hay and concentrate in pellets (0.6 kg dry matter per 100 kg live weight). One month before slaughtering, concentrate increased to 1 kg dry matter per 100 kg live weight. Animals were slaughtered at 13, 20 and 26 months of age and a sample of LD muscle was taken and treated for electronic microscopy as the following protocol. Specimens of 0,5 mm<sup>3</sup> from LD muscle, were fixed in 4% paraformaldehyde and 2.5% glutaraldehyde in phosphate buffer solution 0.1 M pH 7.4, postfixed with 1% osmium tetroxide, dehydrated in graded alcohols, embedded in resin (Epon Araldite, Fluka Chemie GmbH, Buchs, CH) and cut in 60 nm sections. The specimens were observed and photographed with a transmission electron microscope (Siemens mod. 102) (Figura 1). By means of image analysis system (IAS of Hesp Tecnology SRC, S.G. Valdarno-AR) (Figura 2) the following parameters, for each muscular fiber types (type I, IIA, IIB), were calculated: percentage of whole myofibrils, percentage of splitting myofibrils, whole myofibrils surface and splitting myofibrils surface (Tabella 1). Data on the splitting and whole myofibrils percentage and surfaces were elaborated by means of three-way analysis of covariance,

using as covariate the age difference between the single subject and the mean of belonging group. The percentage of the splitting myofibrils trend was calculated by regression analysis (SAS 1995).

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of the present study provide the first analysis of the myofibrillar evolution in different types of muscular fibers (type I, IIA, IIB) in LD of Chianina steers and bulls at 13, 20 and 26 months. The data reported in Tabella 1 allowed us to affirm that:

- 1) castration influenced all the considered parameters. In particular, in steers the percentage of whole myofibrils was significantly higher than that observed in the bulls. This finding confirmed the fact that in castrated there is a less muscular development (Campodoni *et al.*, 1997; Preziuso *et al.* 1997). Significant were the differences regarding the myofibrils surface, bigger in the entire;
- 2) the animals at 13 months still showed a high percentage of splitting myofibrils. At 20 months this percentage was reduced and it remained constant up to 26 months. The same trend was displayed by the myofibrillar surface;
- 3) the percentage of the whole myofibrils in the muscular fiber types I and IIA, was significantly lower than that observed in type IIB. On the other hand, the surface of the whole myofibrils belonging to the type I fibers, was smaller than the surface of the whole myofibrils of the IIA and IIB fiber types;
- 4) observing the trend of the splitting myofibrils percentage as a function of age, independently from fiber type (Figura 3), we noted that steers at 13 months, compared to the bulls, showed a significant difference of the myofibrillar division. This difference tended to zero with the age increase, in fact at 26 months the percentage of the splitting myofibrils tended to be the same in the two groups of animals.

In conclusion, the ultrastructural data confirmed the previous findings on the different muscular growth between steers and bulls, owing to the hormonal action.