

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Ivana D. Adamović

**UTICAJ DODAVANJA DAIDZEINA U
HRANU SUPRASNIH KRMAČA NA RAST I
RAZVOJ MIŠIĆNOG TKIVA POTOMSTVA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2012.

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Ivana D. Adamović

**INFLUENCE OF DAIDZEIN
SUPPLEMENTATION TO SOWS DIET ON
GROWTH AND DEVELOPMENT OF
MUSCLE TISSUE IN THE PROGENY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2012.

Ovo istraživanje je obavljeno pri

LEIBNIZ INSTITUTE FOR FARM ANIMAL BIOLOGY,
DUMMERSTORF, GERMANY

Istraživačka jedinica
MUSCLE BIOLOGY AND GROWTH

pod supervizijom Dr. rer. nat. Charlotte Rehfeldt

<http://www1.fbn-dummerstorf.de/de/Forschung/FBs/fb6/rehfeldt/rehfeldt.htm>

This study was conducted in the

LEIBNIZ INSTITUTE FOR FARM ANIMAL BIOLOGY,
DUMMERSTORF, GERMANY

Research Unit
MUSCLE BIOLOGY AND GROWTH

under supervision of Dr. rer. nat. Charlotte Rehfeldt

<http://www1.fbn-dummerstorf.de/de/Forschung/FBs/fb6/rehfeldt/rehfeldt.htm>

KOMISIJA

Mentor:

1. Dr Duško Vitorović, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet
-

Članovi komisije:

2. Dr Milica Petrović, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet
 3. Dr Gordana Ušćebcka, redovni profesor, Univerzitet u Novom Sadu,
Poljoprivredni fakultet
 4. Dr Vesna Poleksić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet
 5. Dr Zdenka Blagojević, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine
-

Datum odbrane:

UTICAJ DODAVANJA DAIDZEINA U HRANU SUPRASNIH KRMAČA NA RAST I RAZVOJ MIŠIĆNOG TKIVA POTOMSTVA

Apstrakt

Cilj rada je bio da se ispitaju efekti dodavanja izoflavona daidzeina u hranu suprasnih krmača tokom kasne faze suprasnosti, na porast telesne mase, morfološke i mikroskopske osobine mišića *m. semitendinosus*, kod novorođene prasadi i tovljenika na kraju tova. Takođe, ispitivan je uticaj veličine legla na ove osobine kako kod prasadi tako i kod tovljenika, i uticaj pola kod životinja na kraju tova. Disertacija je sprovedena u dva zasebna eksperimenta. U Eksperimentu 1, krmače su hranjene smešom u koju je bila uključena sojina sačma, a krmače iz ogledne grupe su od 85-og dana suprasnosti dobijale sintetički daidzein u količini 8 mg/kg hraniva. U Eksperimentu 2, krmače su hranjene smešom koja nije sadržala soju, a ogledna grupa je od 85-og dana suprasnosti dobijala u hrani sintetički daidzein u količini 1 mg/kg telesne mase. Dobijeni rezultati su pokazali da nije došlo do statistički značajnog uticaja daidzeina na povećanje postnatalnog porasta telesne mase i morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus*, kako kod novorođene prasadi tako ni kod tovljenika na kraju tova. Tretman krmača daidzeinom, u toku kasne faze suprasnosti, imao je mali ali ne statistički značajan uticaj na strukturu mišića *m. semitendinosus*, kod novorodene prasadi, izražen kroz povećanje ukupnog broja vlakana, broj primarnih vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna. Veličina legla, kroz inverzan odnos sa masom prasadi pri rođenju, imala je značajan uticaj na strukturu mišića *m. semitendinosus*, kod prasadi. Tako su prasad iz malih legala imala statistički značajno veći ukupan broj mišićnih vlakana kao i broj primarnih i sekundarnih vlakana. Kod tovljenika iz Eksperimenta 1, nije ispoljena značajna promena broja, procentualne zastupljenosti i površine STO, FTO i FTG vlakana, pod uticajem daidzeina. Nasuprot tome, kod tovljenika iz Eksperimenta 2 (krmače hranjene obrocima bez soje), dodavanje daidzeina je dovelo do smanjenja % FTO (za 3,5%) a povećanja % udela FTG vlakana (za 5%). Prosečan broj jedara po jednom mišićnom vlaknu, kod tovljenika, nije bio promenjen pod uticajem daidzeina. Konstatovan je trend smanjenja broja jedara sa smanjenjem površine vlakna. Pol ispitivan kod tovljenika kao jedini faktor, ili u interakciji sa tretmanom, ispoljio je uticaj na telesnu masu,

morfološke osobine *m. semitendinosus*, ukupan broj vlakana i zastupljenost pojedinih tipova vlakana u mišiću. Konačno, rezultati ove doktorske disertacije ukazali su na marginalni uticaj dodavanja daidzeina u hranu krmača tokom kasne faze suprasnosti, na postanatalni rast i strukturu mišića *m. semitendinosus* kod potomaka, i ukazali na potrebu daljih istraživanja u pravcu ispitivanja efekata drugih koncentracija i vremena dodavanja ovog jedinjenja suprasnim krmačama na mišično tkivo potomstva.

Ključne reči: porast mišića, struktura mišićnog tkiva, mišićna vlakna, daidzein, svinje

Naučna oblast: Zootehnika

Uža naučna oblast: Anatomija i fiziologija domaćih i gajenih životinja

UDK broj: 636.086.8:636.4(043.3)

INFLUENCE OF DAIDZEIN SUPPLEMENTATION TO SOWS DIET ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF MUSCLE TISSUE IN THE PROGENY

Abstract

The aim of this work was to investigate the effects of isoflavone daidzein supplementation to sows diet during late gestation on body weight, morphological and histological characteristics of *m. semitendinosus* in newborn piglets and slaughter pigs. Also, the influence of litter size on these characteristics in newborn piglets and slaughter pigs, and the influence of gender in slaughter pigs were investigated. The investigation was conducted in two separate experiments. In Experiment 1, sows were fed standard feed which included soy meal. Sows from experimental group were supplemented with 8 mg of synthetic daidzein per kg of feed and day. In Experiment 2, feed of sows did not contain soy, and experimental group of sows was supplemented with 1mg of synthetic daidzein per kg of body weight. The obtained results showed that daidzein supplementation did not influence the increase of body weight and morphological characteristics of *m. semitendinosus*, neither in newborn piglets nor in slaughter pigs. Treatment of sows with daidzein during late gestation had a minor, but not statistically significant influence on *m. semitendinosus* structure in newborn piglets, expressed as an increase of total muscle fiber number, number of primary fibers and secondary:primary ratio. Litter size, through its inverse relationship with birth weight, had significant influence on *m. semitendinosus* structure in newborn piglets. Small litter piglets had significantly higher total number of muscle fibers, number of primary and number of secondary fibers. Daidzein supplementation to sows did not influence muscle fiber type distribution and area of STO, FTO and FTG fibers in progeny at slaughter in Experiment 1. Conversely, in Experiment 2, daidzein supplementation to sows caused significant decrease of FTO percentage (for 3,5%) and increase of FTG percentage (for 5%). Number of nuclei per muscle fiber was not changed in slaughter pigs under daidzein treatment. It was found that number of nuclei per muscle fiber tends to decrease with decrease of muscle fiber cross sectional area. The influence of gender as

the only factor, or in interaction with treatment, was detected for body weight, morphological characteristics of *m. semitendinosus*, total number of muscle fibers and fiber type distribution in muscle of slaughter pigs. Finally, the results of this PhD thesis point at marginal influence of daidzein supplementation to sows diet during late gestation on postnatal growth and structure of *m. semitendinosus* in the offspring. Further investigations with different concentrations of daidzein, and different timing of their supplementation to sows should be conducted with the aim to obtain better knowledge on influence of this isoflavone on skeletal muscle structure in the offspring.

Key words: muscle growth, structure of muscle tissue, muscle fibers, daidzein, pig

Sadržaj	strana
1. Uvod	1
2. Pregled literature	4
2.1 Struktura mišićnog tkiva	4
2.1.1 Grada poprečno-prugastog mišićnog tkiva	4
2.1.1.1 Tipovi mišićnih vlakana	8
2.1.2 Miogeneza – prenatalni razvoj mišićnog tkiva	11
2.1.3 Postnatalni razvoj mišićnog tkiva	16
2.1.4 Odnos broja i prečnika mišićnih vlakana	18
2.2 Uticaj različitih faktora na rast mišića i strukturu mišićnog tkiva	19
2.2.1 Naslednost i uticaj selekcije	19
2.2.2 Karakteristike mišića	22
2.2.3 Vrsta životinje	23
2.2.4 Rasa	24
2.2.5 Jedinka	27
2.2.6 Pol	27
2.2.7 Uticaj okoline	28
2.2.7.1 Fetalna ishrana	28
2.2.7.2 Postnatalna ishrana	29
2.2.7.3 Temperatura okoline	30
2.2.7.4 Fizička aktivnost	31
2.2.8 Uticaj veličine legla i mase na rođenju	31
2.2.9 Uticaj faktora rasta i hormona	33
2.2.9.1 Mišićni regulatorni faktori (MRF)	33
2.2.9.2 Insulinski faktori rasta	34
2.2.9.3 Miostatin	35
2.2.9.4 Hormoni	35
2.2.9.4.1 Hormon rasta	35
2.2.9.4.2 Hormoni štitne žlezde	37
2.2.9.4.3 Polni hormoni – estrogen	38
2.3 Izoflavoni – Fitoestrogeni	39
2.3.1 Metabolizam izoflavona	41
2.3.2 Fiziološki efekti izoflavona	42
2.3.3 Uticaj izoflavona na mišićno tkivo	45
2.4 Uticaj strukture mišićnog tkiva na kvalitet mesa	48

3. Ciljevi i zadaci istraživanja	52
4. Materijal i metod rada	53
4.1 Životinje i ishrana	53
4.1.1 Eksperiment 1	53
4.1.2 Eksperiment 2	56
4.2 Histološke i histohemijske analize mišićnog tkiva	58
4.3 Statistička obrada podataka	63
5. Rezultati	66
5.1 Histološke i histohemijske analize mišićnog tkiva	66
5.2 Eksperiment 1	70
5.2.1 Prasad	70
5.2.1.1 Proizvodne osobine	70
5.2.1.2 Morfološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	71
5.2.1.3 Histološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	73
5.2.2 Tovljenici	77
5.2.2.1 Proizvodne osobine	77
5.2.2.2 Morfološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	78
5.2.2.3 Histološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	80
5.3 Eksperiment 2	91
5.3.1 Prasad	91
5.3.1.1 Proizvodne osobine	91
5.3.1.2 Morfološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	92
5.3.1.3 Histološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	94
5.3.2 Tovljenici	98
5.3.2.1 Proizvodne osobine	98
5.3.2.2 Morfološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	99
5.3.2.3 Histološke osobine <i>m. semitendinosus-a</i>	102
6. Diskusija	114
7. Zaključak	144
8. Literatura	147
9. Biografija autora	164
10. Prilozi - Izjave	165

Spisak korišćenih skraćenica:

MyHC – myosine heavy chain – teški lanac miozina
MyLC – myosine light chain – laki lanac miozina
ATPaza – adenozin trifosfataza
SDH – sukcinat dehidrogenaza
STO – slow twitch oxidative fiber – sporo okidajuće oksidativno mišićno vlakno
FTO – fast twitch oxidative fiber – brzo okidajuće oksidativno mišićno vlakno
FTG – fast twitch glycolitic fiber – brzo okidajuće glikolitičko mišićno vlakno
SP ćelije – side population cells – populacija pluripotentnih ćelija u mišićnom tkivu
P vlakna – primarna mišićna vlakna – primarna generacija mišićnih vlakana
S vlakna – sekundarna mišićna vlakna – sekundarna generacija mišićnih vlakana
T vlakna – tercijalna mišićna vlakna – tercijalna generacija mišićnih vlakana
MLD – *musculus longissimus dorsi*
IGF – insulin like growth factors – insulinski faktori rasta
MRF – mišićni regulatorni faktori
MyoD – myogenine determination factor D – gen odgovoran za usmeravanje ćelija ka formiranju mioblasta
Myf5 – myogenic factor 5 – mišićni faktor 5
MRF4 – myogenic regulation factor 4 – mišićni regulatorni faktor 4
GF – growth factors – faktori rasta
GH – growth hormone – hormon rasta
ST – somatotropin – hormon rasta
DES – dietilstilbestrol
ER – estrogeni receptori
PSE – pale, soft, exudative meat – bledo, meko, vodnjikavo meso
DFD – dark, firm, dry meat – tamno, tvrdo, suvo meso
MJ ME – mega džul metaboličke energije
NADH – nikotinamid adenin dinukleotid redoksid
GLM – general linear model
LSM – least squares means
SE – standard error – standardna greška

1. Uvod

Proizvodnja i trgovina mesom veoma su važne grane stočarstva i poljoprivrede uopšte. Stalni porast prosečne potrošnje mesa po stanovniku u razvijenim zemljama, i potrošnja ispod proseka u Srbiji ukazuju da naša zemlja ima mogućnosti i da bi trebalo da razvija ovu granu poljoprivrede u cilju zadovoljavanja potreba najpre sopstvenog tržišta ali isto tako i mogućnosti izvoza u druge države.

Najveći proizvođač svinjskog mesa u svetu je Kina (Stamenković i sar., 2008), a najveći uvoznici su upravo zemlje Evropske Unije. Najveću godišnju potrošnju svinjskog mesa po stanovniku imaju evropske zemlje, gde prednjače Danska i Španija sa 65 kg mesa godišnje (<http://poljoprivreda.info/?oid=6&id=666>). Srbija izvozi svinjsko meso na evropska tržišta u marginalnom i skromnom obimu.

Tokom dugog niza godina odgajivanje svinja išlo je u pravcu povećanja mesnatosti i smanjenja debljine leđne slanine, tako da je danas gotovo postignut biološki maksimum što se tiče količine tzv. bezmasnog, krtog mesa (lean meat). Takođe, jednostrana selekcija dovela je do pojave različitih problema, kako zdravstvenih, tako i onih vezanih za kvalitet mesa.

Istovremeno sve više je rasla briga potrošača o kvalitetu mesa, osobini koju je teško oceniti obzirom da zavisi od velikog broja aspekata, kako objektivnih tako i subjektivnih (Sosnicki i sar., 2003). Usled rastućih zahteva potrošača u pogledu kvaliteta mesa, mesna industrija preduzela je određene korake ka njihovom zadovoljenju. Postoji veći broj relativno jednostavnih metoda merenja kvaliteta mesa, pomenimo samo merenje pH vrednosti mesa 45 minuta i 24 časa nakon klanja, koje su danas standardno uključene u odgajivačke programe.

Sa druge strane, meso kao krajnji, komercijalni proizvod, nastaje od skeletnih mišića koji dok je životinja živa imaju izuzetno važnu fiziološku funkciju držanja u normalnom

položaju ili pokretanja pojedinih delova ili celog tela. Obzirom da masa mišića čini oko 40% telesne mase životinja pri rođenju i preko 50% od ukupne telesne mase kod odraslih životinja (Rehfeldt i sar., 2007, Kosovac i sar., 2008), rast i razvoj mišića su praktično glavne komponente porasta tela. Zbog toga je neophodno stalno proširivanje znanja o nastanku i razvoju mišićnog tkiva, kao i faktorima koji mogu imati uticaj na ove procese.

Savremena svinjarska proizvodnja ima veoma težak zadatak – da istovremeno podmiri veoma različite, često suprotne zahteve: da se obim proizvodnje mesa poveća toliko da može zadovoljiti potrebe krajnjih potrošača; da se selekcijom ne naruše osnovne biološke i fiziološke mogućnosti životinja; da kvalitet mesa bude u skladu sa zahtevima konzumenata odnosno prerađivačke industrije; da se proces proizvodnje mesa ubrza, a da pri tome troškovi proizvodnje ne pređu granicu rentabilnosti.

Zbog toga se, tokom poslednjih godina, različite grane industrije spajaju u sve kompleksnije sisteme proizvodnje hrane – „value chains“ ili lance vrednosti, koji uključuju vertikalno ali i horizontalno povezane učesnike (Sosnicki i Newman, 2010). Cilj ovakvih lanaca je da postignu stalnu konkurenčnost na tržištu kroz usmeravanje resursa ka efektnoj proizvodnji dobara koja potrošaču nude odličan i prepoznatljiv kvalitet.

Stanje svinjarske proizvodnje u Srbiji znatno je pogoršano tokom proteklih dvadesetak godina (Petrović i sar., 2005). Razlozi za ovakav, negativan trend, su mnogostruki, od nerazjašnjenih pravno-vlasničkih odnosa, nedovoljno uspešnih privatizacija, nepovoljnih cena, sve do opadanja broja nerastova i nazimica koje ulaze u performans test, neplanskih ukrštanja ili nepoštovanja odgajivačkih programa itd.

Prema podacima Privredne Komore Srbije, u 2007-oj godini prosečna godišnja potrošnja mesa po stanovniku u Evropskoj Uniji iznosila je oko 70 kg, dok je u Srbiji bila 48,7 kg, što se može tumačiti slabijom kupovnom moći građana, ali i malim obimom proizvodnje mesa. Ako se posmatra potrošnja samo svinjskog mesa, tokom 2003-će, 2004-te i 2005-te godine, prosečna godišnja potrošnja svinjskog mesa po glavi

stanovnika iznosila je oko 16 kg u Srbiji, dok je u zemljama Evropske Unije bila oko 45 kg (Petrović i sar., 2005).

Sve navedeno govori o mogućnostima daljeg razvoja proizvodnje svinjskog mesa i u našoj zemlji. Da bi se organizovala proizvodnja optimalnog obima i kvaliteta, neophodno je zadovoljiti veliki broj kriterijuma, od smeštajnih kapaciteta, preko pravilne selekcije i odgajivanja, do potreba u hrani. Međutim, kako je meso praktično najvažniji proizvod koji se od ove vrste domaćih životinja može koristiti, a s obzirom na sve veće zahteve potrošača za određenim kvalitetom mesa i proizvoda od mesa, potrebno je raditi na poboljšanju proizvodnje ne samo u smislu povećanja količine, već i u pogledu strukture i kvaliteta mesa.

Imajući u vidu sa jedne strane specifičnosti naše zemlje i uslove u kojima se svinjarstvo u Srbiji trenutno nalazi, i svetske trendove u svinjarskoj proizvodnji, Petrović i sar. (2005) predlažu čitav niz mera koji bi za cilj imali specijalizaciju proizvodnje, definisanje odgajivačkih programa koji bi vodili konstantnom poboljšavanju genetske osnove svinja ali istovremeno bili fleksibilni i podložni promenama u skladu sa zahtevima potrošača. Naučna dostignuća iz oblasti svinjarstva samo su jedna karika koja neosporno mora biti uključena u takav „lanac vrednosti“ proizvodnje svinjskog mesa.

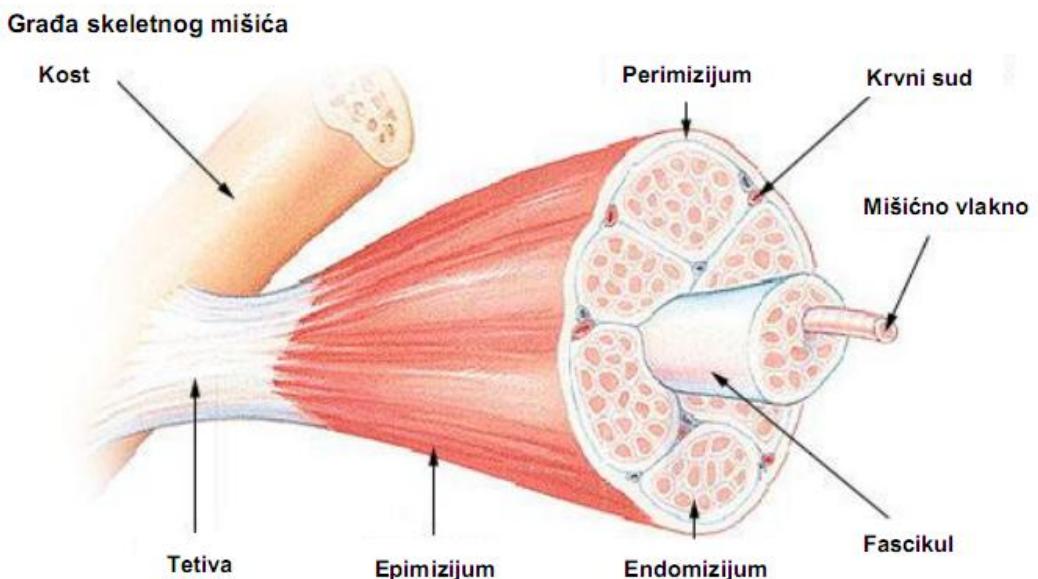
2. Pregled literature

2.1 Struktura mišićnog tkiva

U organizmu životinja prisutne su dve vrste mišićnog tkiva: glatko i poprečno-prugasto (Ross i Pawlina, 2006). Poprečno-prugasto mišićno tkivo dalje se po osnovu mesta gde se nalazi može podeliti na: skeletno, visceralno i srčano mišićno tkivo. Visceralno, srčano i glatko mišićno tkivo imaju veoma važne fiziološke funkcije jer potpomažu disanje, gutanje (visceralno mišićno tkivo), grade srčani mišić (srčano mišićno tkivo), odnosno ulaze u sastav unutrašnjih organa (glatko mišićno tkivo), ali sa ekonomске strane gledišta u proizvodnji mesa ove vrste mišićnog tkiva nemaju značaj. Za proizvodnju mesa važno je poprečno-prugasto mišićno tkivo. Ovo tkivo izgrađuje skeletne mišiće, a u komercijalnom smislu predstavlja – meso.

2.1.1 Građa poprečno-prugastog mišićnog tkiva

Jedinica građe i funkcije poprečno-prugastog mišićnog tkiva je mišićno vlakno ili mišićna ćelija. Mišićna vlakna u mišiću nisu naslagana nasumice već u pravilne snopove okružene epimizijumom, spoljašnjim omotačem od gustog veziva koje obavlja ceo mišić (Slika 1). Od epimizijuma se ka unutrašnjosti mišića protežu tanke pregrade (septe) od vezivnog tkiva, koje obavijaju snopove mišićnih vlakana unutar mišića. Vezivno tkivo oko svakog snopa vlakana naziva se perimizijum, a ovakva mišićna formacija – snop mišićnih vlakana obavljen perimizijumom naziva se fascikul (snop). Fascikuli se mogu videti na poprečnom preseku mišića i golim okom. Takođe, svako pojedinačno mišićno vlakno unutar fascikula obavijeno je tankim slojem vezivnog tkiva koje se naziva endomizijum. Svi vezivni tkivni omotači u okviru mišića, zajedno sa kolagenom koji se nalazi između vlakana na završetku mišića se spajaju formirajući tetivu, koja pričvršćuje mišić za kost.



Slika 1. Šematski prikaz poprečnog preseka mišića
[\(\[http://training.seer.cancer.gov/images/anatomy/muscular/muscle_structure.jpg\]\(http://training.seer.cancer.gov/images/anatomy/muscular/muscle_structure.jpg\)\)](http://training.seer.cancer.gov/images/anatomy/muscular/muscle_structure.jpg)

Mišično vlakno je dugačka ćelija, približno kružnog poprečnog preseka, sa većim brojem jedara raspoređenih po periferiji citoplazme. Dužina vlakna može biti od nekoliko milimetara do nekoliko centimetara, a prečnik vlakna varira od 10 do 100 μm . Svako vlakno je inervisano i preko mreže kapilara snabdeveno krvlju. Kao i svaka druga ćelija, tako je i mišićna ćelija obavijena ćelijskom membranom, koja kod mišićnih ćelija ima specifičan naziv – sarkolema. Unutar ćelije nalazi se citoplazma – sarkoplazma, sa tipičnim ćelijskim organelama od kojih su za funkciju vlakna od najvećeg značaja mitohondrije i sarkoplazmatični retikulum. U sarkoplazmi mišićnog vlakna prisutan je i veliki broj još tanjih miofibrila, na kojima se uočavaju tamne pruge *A diskovi* i svetle pruge *I diskovi*. Tamne i svetle pruge posledica su tačno određenog rasporeda sastavnih delova miofibrila – mikrofilamenata sastavljenih od molekula aktina i miozina, i različite sposobnosti filamenata da refraktuju svetlost. Osim što poprečno-prugastom mišićnom tkivu daju karakterističan izgled, po kome je ova vrsta mišićnog tkiva i dobila naziv, sastavni delovi filamenata - aktin i miozin su molekuli preko kojih se obavlja složen proces mišićne kontrakcije.

Miofibrili sadrže dve vrste mikrofilamenata: debele, koji se sastoje uglavnom od molekula miozina, i tanke koji se sastoje uglavnom od molekula aktina, ali u njihovoj građi učestvuju i proteini tropomiozin i troponin. Da bi se očuvala efikasnost i brzina mišićne kontrakcije, neophodno je prisustvo tzv. dodatnih proteina: titina, nebulina,

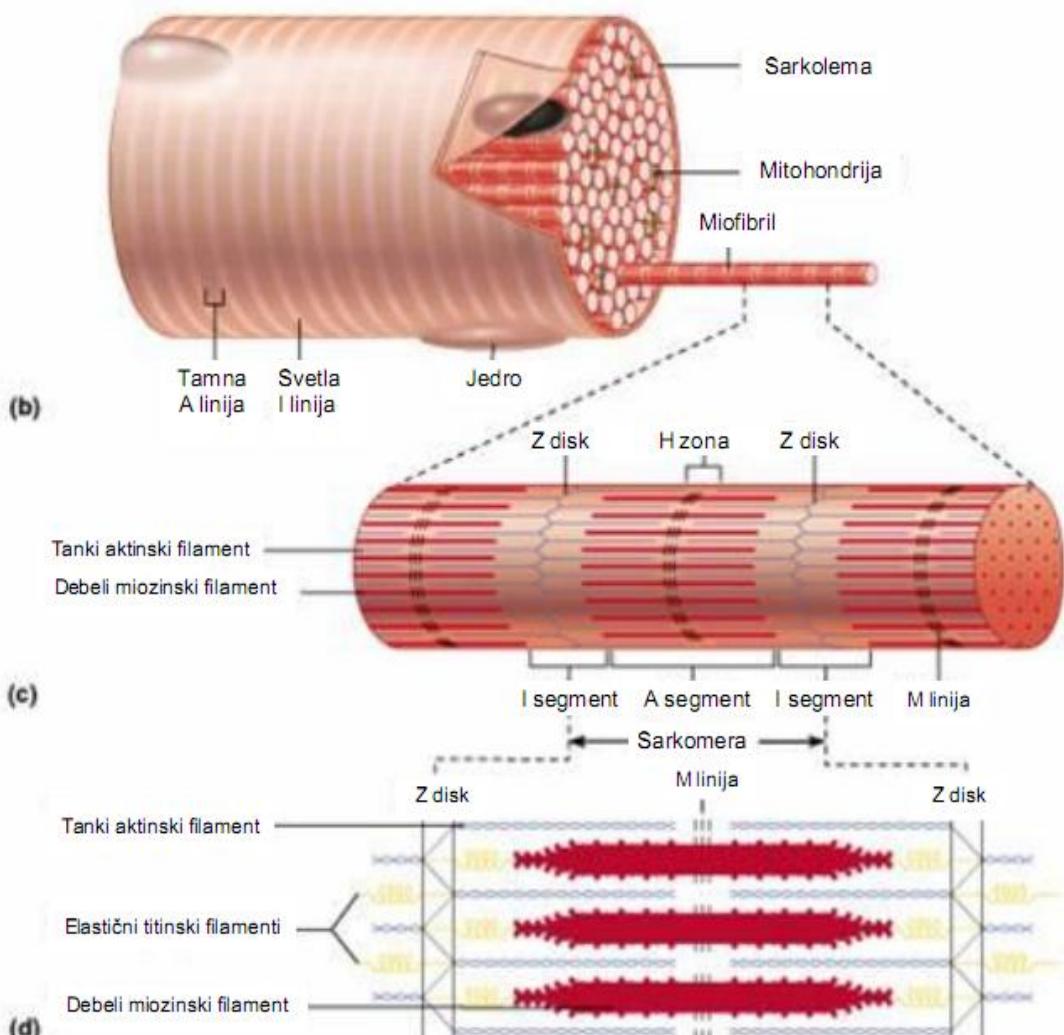
dezmina i drugih (Poleksić i sar., 2003, Ross i Pawlina, 2006). Ovi proteini čine oko 25% ukupnih proteina u mišićnom vlaknu, a imaju ulogu u regulaciji rastojanja, povezivanja i pravilnog postavljanja mikrofilamenata pri kontrakciji.

Debeli filament sastoji se od oko 200 pojedinačnih molekula miozina. Svaki molekul miozina izgrađen je od 6 polipeptidnih lanaca: dva teška i četiri laka. Dva lanca teškog miozina (myosine heavy chain – MyHC) formiraju dvostruki heliks, čiji je jedan deo ravan i naziva se rep, a suprotni deo heliksa je „odmotan“ i formira dve miozinske glave. U građi svake miozinske glave osim teškog miozina učestvuju i po dva lanca lakog miozina (myosine light chain – MyLC). Molekuli miozina su u okviru debelog filimenta spojeni preko svojih repova, a miozinske glave „štре“ na suprotnim krajevima filimenta okrenute ka spoljašnjosti, tj. ka tankim – aktinskim filamentima. Ukupna dužina debelog filimenta, kada je mišić relaksiran, je negde oko 1,6 μm.

Tanki filament sastoji se od spiralno uvijenih dvostrukih lanaca aktina, tropomiozina i globularnog troponina. Molekul aktina tokom kontrakcije mišića komunicira sa miozinskim filamentima. Uloga tropomiozina je da kada je mišić relaksiran prepokriva aktivna mesta na aktinu, i onemogućava interakciju aktina i miozina. Troponin ima funkciju da sa jedne strane pričvršćuje molekul tropomiozina za aktin, a sa druge strane troponin ima snažan afinitet prema jonima kalcijuma, koji iniciraju kontrakciju. Dužina tankog filimenta, kada je mišić relaksiran, je negde oko 1 μm.

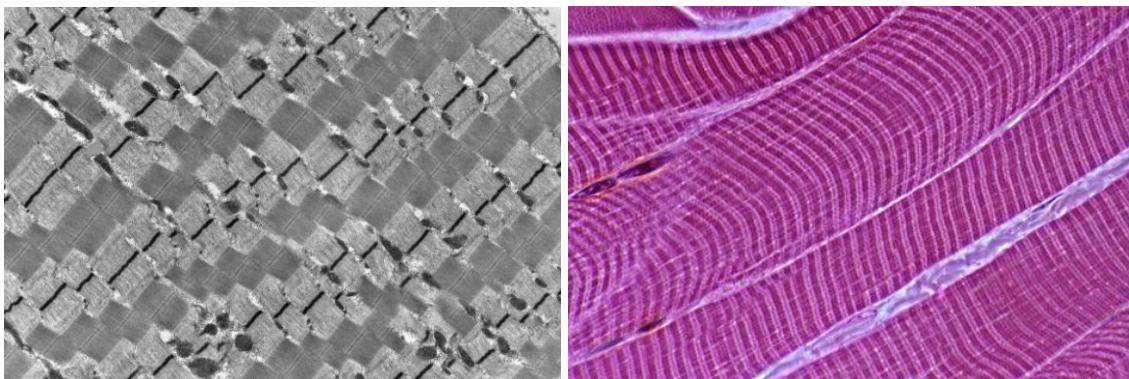
Raspored debelih i tankih filamenata u miofibrilu je tačno određen. Naime, dužinom miofibrila jedna na drugu vezuju se sarkomere (Slika 2). Spoj dve sarkomere naziva se Z linija. Na svakoj Z liniji vezani su tanki filamenti, koji se od Z linije pružaju ka sredini sarkomere. Međutim, dva aktinska filimenta koja se prostiru sa suprotnih Z linija ne spajaju se na sredini, već između dva suprotna aktinska filimenta, kada je mišić relaksiran postoji slobodan prostor - H zona. Kada je mišić u kontrakciji, aktinski filimenti sa suprotnih Z linija se dodiruju na samoj sredini sarkomere u tzv. M liniji. M linija je takođe mesto koje predstavlja sredinu debelog, miozinskog filimenta. Miozinski filimenti raspoređeni su tako da je svaki okružen sa po 6 tankih filamenata. Region sarkomere gde su na preseku pristuni i debeli i tanki filamenti naziva se A disk,

ili A zona, zbog toga što je ovaj deo sarkomere anizotropan – ne refraktuje svetlost. Deo sarkomere gde su pristuni samo tanki aktinski filamenti, refraktuje svetlost, izotropan je, pa se naziva I disk ili I zona.



Slika 2. Građa mišićnog vlakna
http://1.bp.blogspot.com/_1MW6Tajv9y0/S-dn2Wi2sDI/AAAAAAA4/TwvE6a74DYM/s400/muscle.gif

Različite zone sarkomera susednih miofibrila se poklapaju, A zona jednog miofibrila naleže na A zonu susednog, takođe I zona jednog miofibrila naleže na I zonu susednog, pa se na uzdužnom preseku mišića mogu lepo uočiti pravilno raspoređene tamne i svetle pruge (Slike 3 i 4)



Slika 3. (levo) Slika poprečno prugastog mišićnog tkiva – elektronska mikroskopija
[\(\[http://www.amtimaging.com/www11/src_gallery/gallery_2012/xr16m_2012/041_striatedmuscle.jpg\]\(http://www.amtimaging.com/www11/src_gallery/gallery_2012/xr16m_2012/041_striatedmuscle.jpg\)\)](http://www.amtimaging.com/www11/src_gallery/gallery_2012/xr16m_2012/041_striatedmuscle.jpg)

Slika 4. (desno) Slika poprečno prugastog mišićnog tkiva – svetlosna mikroskopija
[\(\[http://www.sciencephoto.com/image/303273/large/P1550028-Primate_Skeletal_Muscle-SPL.jpg\]\(http://www.sciencephoto.com/image/303273/large/P1550028-Primate_Skeletal_Muscle-SPL.jpg\)\)](http://www.sciencephoto.com/image/303273/large/P1550028-Primate_Skeletal_Muscle-SPL.jpg)

Danas je opšte prihvaćena teorija po kojoj se kontrakcija mišića odvija tzv. klizanjem filamenata. Ona započinje kada jon kalcijuma otkrije aktivna mesta na molekulu aktina. Za aktivna mesta vezuju se glave teškog miozina sa debelog filamenta, i čitava sarkomera se skraćuje klizanjem aktinskih filamenata između miozinskih ka središtu sarkomere odnosno M liniji. Kontrahovanjem na miofibrilu uzdužno postavljenih sarkomera i do 30% svoje dužine, postiže se smanjenje dužine čitavog miofibrila. A kontrahovanjem grupe miofibrila koji grade mišićno vlakno smanjuje se i dužina celog vlakna. Energija neophodna za proces kontrakcije dobija se hidrolizom ATP-a.

2.1.1.1 Tipovi mišićnih vlakana

Najrasprostranjeniji protein u mišićnom vlaknu je miozin. Ovaj protein je takođe i pokretač mišićne kontrakcije, pa bi se moglo reći da on određuje mehaničke osobine i potrebe u energiji jednog mišićnog vlakna (Reggiani i Mascarello, 2004).

U organizmu različitim vrstama kičmenjaka otkriven je veliki broj izoformi miozina. U skeletnoj muskulaturi sisara prisutno je osam izoformi teškog miozina: embrionska, perinatalna, IIa, IIx, IIb, ekstraokularna, β -spora i α -srčana izoforma (Weiss i Leinwand, 1996). Neke od ovih izoformi prisutne su samo u određenom periodu života jedinke, npr. tokom embrionalnog razvića, ili kod odraslih životinja samo tokom regeneracije mišića; neke izoforme specifične su za određene grupe mišića, tako npr. žvakači i očni mišići u svom sastavu imaju izoforme teškog miozina koje se ne mogu naći u poprečno-

prugastim mišićima trupa ili ekstremiteta. Treba napomenuti i to da u jednom mišićnom vlaknu može istovremeno biti prisutno više izoformi MyHC (Rosser i Bandman, 2003), ali kontraktilne osobine, a time i tip vlakna, zavisiće od one izoforme koja je najviše zastupljena (Shiaffino i Reggiani, 1996)

U skeletnim mišićima, odnosno pojedinačnim mišićnim vlaknima odraslih svinja, nalaze se zastupljene četiri izoforme teškog miozina (Schiaffino i Reggiani, 1994, Lefaucheur i sar., 1998), i tri izoforme lakog miozina (Schiaffino i Reggiani, 1994).

Brzina kontrakcije mišićnog vlakna zavisi od brzine hidrolize molekula ATP-a koji se koristi za kontrakciju. Način i brzina hidrolize ATP-a u direktnoj su vezi sa izoformom MyHC (Galler i sar., 1994). Za klasifikaciju vlakana u određene tipove važan je još i energetski metabolizam (Gauthier, 1969).

Kontraktilnost teškog miozina histološki se ispituje na osnovu razlika u osjetljivosti na aktomiozin ATP-azu na određenoj pH vrednosti (Brooke i Kaiser, 1970, Guth i Samaha, 1970). Po ovom osnovu, mišićna vlakna se mogu podeliti na spora i brza.

Osim po osnovu brzine kontrakcije, vlakna se razlikuju i po načinu energetskog metabolizma (Gauthier, 1969). U histologiji se tip energetskog metabolizma može utvrditi ispitivanjem mitohondrijalnog enzima sukcinat-dehidrogenaze (SDH). Ovo omogućava grupisanje vlakana u oksidativna ili crvena koja su tamne boje na histološkim preparatima, i glikolitička ili bela koja se na histološkim preparatima vide kao bela ili svetla.

Primenom metoda konvencionalnog - histoenzimološkog određivanja tipa vlakana, koje kombinuje ove dve važne karakteristike vlakana - brzinu kontrakcije i tip metabolizma, kod odraslih životinja mogu se razdvojiti tri tipa mišićnih vlakana: sporo kontrahujuća (okidajuća) oksidativna (STO), brzo kontrahujuća (okidajuća) oksidativna (FTO) i brzo kontrahujuća (okidajuća) glikolitička (FTG) (Brooke i Kaiser, 1970, Tunell i Hart, 1977, Guth i Samaha, 1970) (Tabela 1, iz Lefaucheur i Gerrard, 2000). Spora mišićna vlakna su vlakna duže izdržljivosti, zadužena za spore i dugotrajne pokrete, i nalaze se

kao više prisutna u onim mišićima koji obezbeđuju pravilno držanje, stajanje. To su uglavnom dublje partie mišića trupa i ekstremiteta. Brza vlakna su zadužena za obavljanje kratkotrajnih ali brzih pokreta, i čine većinu vlakana u mišićima koji utiču na pokretanje određenih delova tela, ili u onim mišićima koji se slabije koriste (tipičan primer su grudni i mišići krila kod živine).

Tabela 1. Biohemijске osobine različitih tipova mišićnih vlakana (Lefaucheur i Gerrard, 2000)

Biohemijска особина	Tip vlakana		
	STO (β R, I)	FTO (α R, IIA)	FTG (α W, IIB)
Tip kontrakcije	Sporo-okidajuća	Brzo-okidajuća	Brzo-okidajuća
Tip metabolizma	oksidativni	oksido-glikolitički	glikolitički
AM-ATPaza	+	++	+++
Glikogen	+	+++	+++
Mioglobin	+++	+++	+
Masti	+++	++	+
Prokrvljenošć	+++	+++	+
Prečnik	+	++	+++

+ slabo izraženo; ++ srednje izraženo; +++ veoma izraženo

Histoenzimološke metode određivanja tipa vlakana danas su u širokoj primeni. Međutim, novija istraživanja, koja se zasnivaju na određivanju prisustva izoformi teškog miozina ukazuju na potrebu razdvajanja vlakana na 4 tipa (Lefaucheur i sar., 2004, Chang i sar., 2003). Kod svinja se sporo-okidajuća tip I vlakna sastoje pretežno od miofibrila koji sadrže tzv. sporu, slow ili β izoformu teškog miozina. U sastavu brzo-okidajućih tip II vlakana učestvuju tri izoforme teškog miozina: IIa, IIx i IIb. Utvrđeno je da se izoforma teškog miozina IIa nalazi prisutna uglavnom u brzo-okidajućim oksidativnim IIA (FTO) vlaknima, dok brzo-okidajuća IIB (FTG) vlakna sadrže različite izoforme teškog miozina u zavisnosti od mišića. Tako npr. *m. longissimus dorsi* svinja sadrži mešavinu čistog IIx, hibridnog IIx/IIb ili čistog IIb teškog miozina, dok duboka partija *m. semitendinosus*-a u FTG vlaknima sadrži samo čistu IIx izoformu teškog miozina (Lefaucheur i sar, 1998). Prisustvo izoforme teškog miozina IIb u mišićnim vlaknima može biti uzrok lošijem kvalitetu mesa kod svinja (Chang i sar., 2003), mada su neka istraživanja pokazala pozitivnu korelaciju između osobina kvaliteta mesa i zastupljenosti teškog miozina IIb (Depreux i sar., 2002). Moguće je da odražavanje zastupljenosti pojedinih izoformi teškog miozina na kvalitet mesa zavisi od vrste mišića i genotipa.

Izoforme lakog miozina, MyLC, takođe prolaze kroz transformacije tokom fetalnog i postnatalnog perioda, a kod odraslih životinja prisutne su tri izoforme koje prate odgovarajuće izoforme teškog miozina odnosno tipove vlakana. Izofome lakog miozina su: spora MyLC1s, zastupljena u sporim STO vlaknima, i dve brze izoforme MyLC1f i MyLC3f koje se obe istovremeno nalaze u brzim FTO i FTG vlaknima (Schiaffino i Reggiani, 1994).

Ipak, i podelu vlakana na osnovu zastupljenosti pojedinih izoformi teškog miozina trebalo bi shvatiti uslovno. Danas većina autora (Reggiani i Mascarello, 2004; Pette i Staron, 2000; Lefaucheur, 2004, Schiaffino i Reggiani, 1996) smatra da je mišićno tkivo izuzetno heterogeno tkivo sastavljeno od više tipova i podtipova vlakana, koji prolaze kroz kontinuirane fenotipske promene odgovarajući na izmenjene mehaničke, hormonalne, neuralne ili druge zahteve. Schiaffino i Reggiani (1994) navode da prisustvo i izoformi teškog, i izoformi lakog miozina utiču na kontraktilne osobine mišićnih vlakana, i da upravo različite kombinacije izoformi dva tipa miozina daju mišićnim vlaknima različitu brzinu i snagu kontrakcije. Istraživanja Rosser-a i Bandman-a (2003) ukazuju i na pojavu više izoformi teškog miozina u okviru jednog mišićnog vlakna. Zbog toga su neophodna dalja istraživanja u cilju što preciznije klasifikacije vlakana na pojedine tipove.

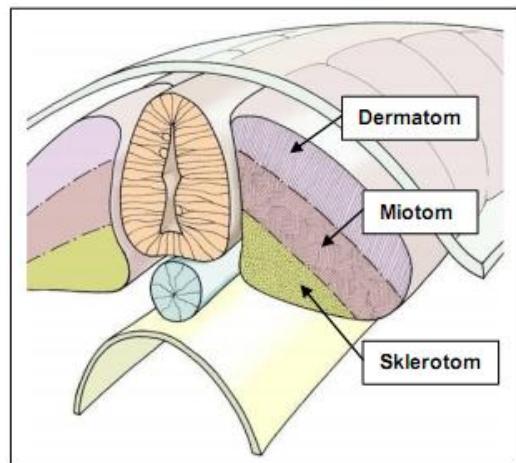
2.1.2 Miogeneza – prenatalni razvoj mišićnog tkiva

Proces nastanka mišićnih ćelija ili vlakana naziva se miogeneza. Osim za mišiće glave, izvor mišićnih ćelija praktično svih skeletnih mišića u telu su somiti. Somiti su parne loptaste skupine mezodermalnih ćelija koje se formiraju sa lateralnih strana neuralne cevi, tokom embrionalnog razvića. Daljom deobom (Slika 5), ćelije somita se determinišu kao:

- dermatom – skup ćelija od koga će daljom transformacijom nastati ćelije dermisa kože
- miotom – skup ćelija od kojih se formiraju mioblasti ili ćelije prekurzori mišićnih vlakana
- sklerotom – skup ćelija od koga će se razviti kičmeni pršljenovi i rebra

Ključni momenat u diferencijaciji ćelija prema određenim linijama predstavlja uključivanje gena, a za usmeravanje ćelija ka formiranju mioblasta, odnosno mišićnih ćelija važni su geni Myogenin i MyoD. Signali za opredjeljivanje ćelija ka određenim linijama, najverovatnije, dolaze od nervne cevi i notohorde.

Slika 5: Determinacija ćelija somita u tri različite linije
(http://www.bionatology.com/skeletal_system_files/image002.jpg)



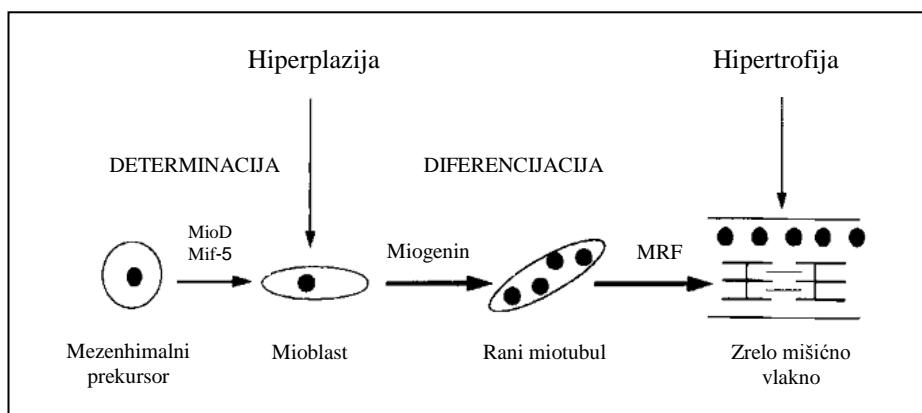
Miotom je skup ćelija koje su opredeljene ka diferencijaciji mišićnog tkiva. Ove prve, početne ćelije ili prekursori ćelija mišićnog tkiva nazivaju se mioblasti (Slika 6). To su bipolarne, jednojedarne ćelije, koje se ubrzano dele. Najveći broj mioblasta ulazi u proces diferencijacije, koji podrazumeva njihovu fuziju u sincicijum i stvaranje više jedarnih, izduženih primarnih vlakana.

Stvaranje primarnih vlakana dešava se u ranim fazama miogeneze, smatra se u prvoj fazi ili prvom talasu stvaranja mišićnih vlakana (Wigmore i Stickland, 1983). U ovoj fazi mišići još uvek nisu prepoznatljivi, a primarna vlakna su dosta velikog obima, međusobno su razdvojena. Broj primarnih vlakana predstavlja samo mali deo ukupnog broja mišićnih vlakana koji će se po završetku fetalnog perioda naći u finalnom mišiću.

Na prvu fazu nastavlja se drugi talas proliferacije, koji se ogleda u formiranju sekundarnih vlakana na površini primarnih. Do kraja miogeneze, svako primarno vlakno biće okruženo sa većim brojem sekundarnih, a takve skupine vlakana nazivaju se klasteri. Broj formiranih sekundarnih vlakana na površini primarnog vlakna zavisi od vrste, i može biti 5-10 kod pacova, 20-25 kod svinja (Stickland i Handel, 1986; Nissen i

sar., 2003) a čak do 70 kod ovaca. Nastankom klastera, prekida se proces proliferacije, primarna vlakna se smanjuju u obimu, dok se sekundarna izdužuju i povećavaju obim - hipertrofiraju, tako da se kod odraslih jedinki praktično ne vidi razlika u veličini i obimu između primarnih i sekundarnih vlakana.

Jedan broj mioblasta ne ulazi u procese fuzije, već ostaje u stanju mirovanja i zadržava svoj prvočitni izgled i funkciju i kod odraslih životinja. S obzirom da se najveći deo sadržaja DNK u jedrima mišića akumulira postnatalno (Allen i sar., 1979), pretpostavlja se da su upravo ovi mioblasti baza za stvaranje DNK kod odraslih jedinki, jer učestvuju u procesima regeneracije i porasta mišićnog tkiva. Ove ćelije nazivaju se „stem“ ćelije, a prva otkrivena vrsta stem ćelija bile su satelitske ćelije (satellite cells) (Mauro, 1961). Novija istraživanja pokazuju prisustvo i drugih pluripotentnih ćelija u mišićnom tkivu, od kojih populacija tzv. SP ćelija (side population cells) privlači sve veću pažnju. Međusobni odnosi različitih subpopulacija stem ćelija, i njihova tačna uloga u postnatalnom razvoju mišićnog tkiva pitanja su na koje je moguće dobiti odgovor samo daljim naučnim istraživanjima.



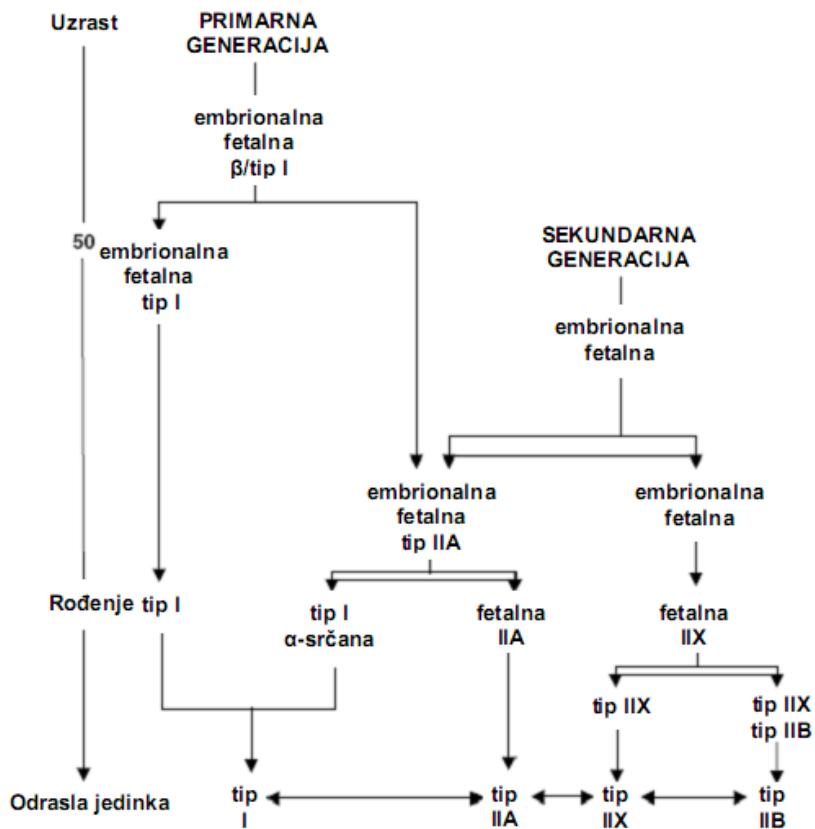
Slika 6: Šematski prikaz determinacije i diferencijacije mišićnih ćelija (Brameld i sar., 1998)

Osim što se primarna i sekundarna vlakna stvaraju u različitim fazama miogeneze, smatra se takođe i da ove dve vrste vlakana vode poreklo od različitih mioblasta. Primarna ili P-vlakna nastaju od embrionalnih mioblasta, a sekundarna ili S-vlakna od fetalnih mioblasta (Swatland i Cassens, 1973).

Kod svinja, kod kojih gestacija traje 114 dana, proces formiranja primarnih vlakana počinje oko 25-30 dana gestacije i traje do 50-60 dana, dok su prva S vlakna vidljiva već oko 50tog dana gestacije, a formiraju se sve do 80tog dana (Swatland i Cassens, 1973; Wigmore i Stickland, 1983). Kod ove vrste životinja opisana su i tercijalna vlakna koja se razvijaju između sekundarnih, i to tokom prvih dana ili nedelja postnatalnog života (Brameld, 2008).

Picard i sar. (2002) navode da kod domaćih životinja, osobine mišićnih vlakana igraju značajnu ulogu u kvalitetu mesa. Ontogeneza mišićnih vlakana počinje veoma rano u toku embrionalnog života, sa sukcesivnom pojavom dve ili tri vrste mioblasta koji predstavljaju izvor (poreklo) različitih tipova mišićnih vlakana. Kod malih životinja (živina, glodari), primarna i sekundarna generacija vlakana nastaju tokom embrionalnog i fetalnog stupnja razvića. Kod većih vrsta (goveda, ovce, svinje) treća generacija vlakana nastaje tokom kasnog fetalnog ili ranog postanatalnog perioda. Na kraju ovih dve ili tri faze miogeneze, ukupan broj mišićnih vlakana u jednom mišiću je fiksiran, ostaje stalan. Uporedo sa miogenezom, odvija se i proces kontraktilne i metaboličke diferencijacije mišićnih vlakana. Primarna P vlakna koja nastaju u prvom talasu proliferacije mioblasta nose embrionalnu izoformu teškog miozina koji se kasnije transformiše u tzv. β , tip I ili spori (slow) teški miozin. Ovakva izoforma ostaje prisutna i tokom postnatalnog života a primarnim vlaknima daje sposobnost spore kontrakcije, pa se ovakva vlakna kod odraslih životinja nazivaju i sporo kontrahujuća ST (slow-twitch) vlakna. Sekundarna S vlakna koja nastaju u drugom talasu proliferacije mioblasta nose u početku takođe embrionalnu izoformu MyHC. Međutim, kod ovih vlakana se embrionalni MyHC može transformisati ili u β teški miozin kod onih S vlakana koja ostaju priljubljena uz centralno postavljeno P vlakno formirajući na taj način klastere, ili se može transformisati u tzv. α , tip II ili brzi (fast) teški miozin (Picard i sar., 2002). Brzi MyHC daće vlaknima sposobnost brze kontrakcije, pa se ova vlakna nazivaju još i brzo kontrahujuća FT (fast-twitch) vlakna.

Pojednostavljeni prikaz diferencijacije vlakana kod svinja tokom miogeneze i nakon rođenja, zasnovan na tranzicijama izoformi teškog miozina prikazan je na Slici 7.



Slika 7. Diferencijacija mišićnih vlakana skeletnih mišića svinja (Lefaucheur i sar., 2000)

Neka istraživanja ukazuju da je broj vlakana fiksiran pri rođenju ili ubrzo nakon rođenja (Wigmore i Stickland, 1983, Rehfeldt i sar., 2000, Brameld i sar., 2003). U praktičnom smislu to sa jedne strane znači da se nakon rođenja povećanje mesnatosti ne može odvijati po osnovu povećanja broja vlakana u mišiću, već samo po osnovu hipertrofije onog broja vlakana sa kojim je jedinka rođena; a sa druge strane ukazuje na miogenezu kao period u kome bi manipulacija sa brojem mišićnih vlakana jedino bila moguća.

Ipak, prema drugim autorima, proces formiranja mišićnih vlakana nešto je složeniji kod krupnih sisara gde se mogu ubrojati i svinje. Istraživanja Mascarello-a i sar. (1992), i Lefaucher-a i sar. (1995), pokazala su da se kod svinja pri samom završetku gestacije i u ranom post-natalnom periodu formira još jedna populacija vlakana, tzv. tercijalnih ili T vlakana. Smatra se da ova vlakna koriste S-vlakna kao matricu za svoje formiranje. Poreklo mioblasta koji se spajaju radi formiranja tercijalnih vlakana nije poznato.

Brameld i sar. (2008) takođe ističu da se intrauterino stvaranje mišićnih vlakana, odvija u dva ili tri talasa (faze). Prvo se formiraju primarna vlakna. Njihovo stvaranje je

praćeno pojavom sekundarnih vlakana, koja se razvijaju oko postojećih primarnih. Kod krupnijih vrsta, ustanovljena su i tercijalna vlakna, koja se razvijaju između sekundarnih. Vreme pojavljivanja pojedinih tipova vlakana je različito kod različitih vrsta (Tabela 2).

Tabela 2. Faze gestacije u kojima se razvijaju pojedini tipovi mišićnih vlakana kod različitih vrsta sisara (Brameld i sar., 2008)

Vrsta	Dužina graviditeta	Primarna vlakna	Sekundarna vlakna	Tercijalna vlakna
Pacov	22 dana	14-16 df	17-19 df	/
Zamorac	68 dana	30 df	30-35 df	/
Svinja	114 dana	35 df	55 df	0 – 15 dpn
Ovca	145 dana	32 df	38 df	62-76 df
Govedo	278-283 dana	60 df	90 df	110 df

df – dana fetalnog života; dpn – dana postnatalnog života

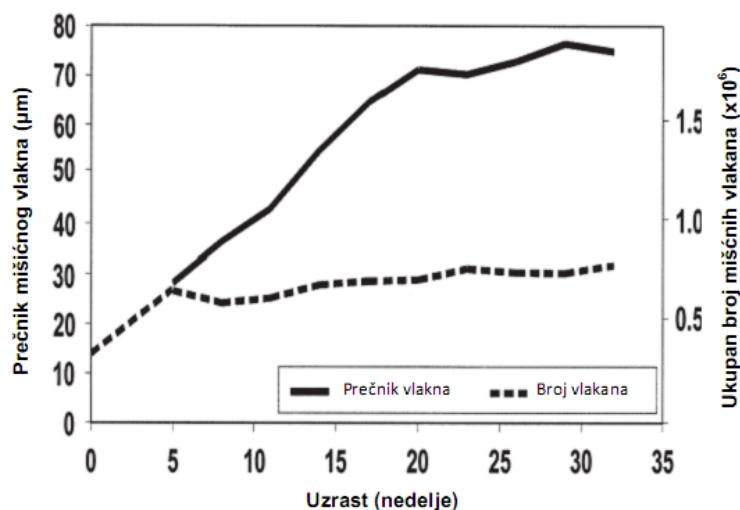
Kod mладунчади, новорођенчади, највећи број примарних влакана су трансформише се у споро оксидативна (тип I) мишићна влакна. У исто време, највећи број секундарних и терцијалних влакана развиће се у влакна брзоконтрахујућег типа (типови IIA и IIB) (Brameld i sar., 2008).

2.1.3 Postnatalni razvoj mišićnog tkiva

Iспитивања великог броја аутора (Staun, 1963, Handel i Stickland, 1988, Dwyer i sar., 1993) показала су да је број мишићних влакана код сисара и птица фиксиран по рођењу, и да се током постнаталног живота пораст мишића не дешива на бази повећања броја влакана, већ по основу пораста величине (пречника и дужине) влакана – хипертрофије (Wegner i sar., 2000, Rowe i Goldspink, 1969). Овaj процес одвија се захвалјујући пролиферативној активности сателитских ћелија које представљају извор једара која се уградњу у растућа влакна (Allen i sar., 1999). Када што је већ рећено, сматра се да се процес формирања влакана код свинја завршава негде до 80-ог дана гестације, и да након тога нема промена у броју влакана. Па ипак, код свинја је primeћен пораст броја влакана у првих неколико недеља након рођења (Rehfeldt i sar., 2000, Rehfeldt i sar., 2008). Могуће објашњење овакве појаве јесте да се број влакана повећава услед сазревања, производња и прорастања већ постојећих мишићних влакана између других влакана у мишићу (Ontell i Kozeka, 1984), а да nije резултат производње нових влакана, док други аутори (Lefaucheur i sar., 1995, Rehfeldt i sar., 2008, Berard i sar., 2011) сматрају да се код свинја у завршним fazama suprasnosti, и непосредно након рођења формира трећа

generacija vlakana malog prečnika. Prema Berard i sar. (2011) pojava povećavanja broja vlakana u prvim nedeljama postnatalnog života kod svinja, rezultat je zajedničkog delovanja oba procesa: i produžavanja i prorastanja postojećih vlakana između drugih vlakana u mišiću, i razvoja nove populacije tercijalnih vlakana. Istraživanje ovih autora pokazalo je najintenzivnije povećanje broja vlakana do 3-će nedelje postnatalnog života prasadi.

Prema Rehfeldt i sar. (1987) prečnik mišićnih vlakana kod svinja rase Nemački landras povećava se od momenta rođenja pa sve do dvadesete nedelje života kada dostiže plato, i kasnije ostaje relativno konstantan. Za razliku od prečnika vlakana, broj mišićnih vlakana ne menja se već od pete nedelje starosti (Slika 8).



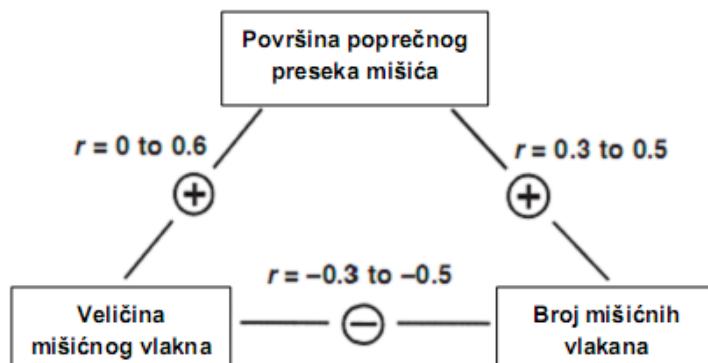
Slika 8. Postnatalni razvoj prečnika mišićnog vlakna i ukupnog broja vlakana na poprečnom preseku mišića *m. Semitendinosus* kod svinja (Rehfeldt i sar., 2000)

Razumevanje mehanizma postnatalnog porasta mišićnih vlakana, hipertrofije, veoma je važno kako sa fiziološkog, tako i sa proizvodnog stanovišta. Smatra se da se pri porastu mišićnog vlakna u njega ubacuju jedra iz satelitskih ćelija, i da svako jedro ishranjuje svoj određeni region citoplazme (Bruusgaard i sar., 2003), dok se tokom atrofije vlakana jedra uklanjaju usled apoptoze (Allen i sar., 1999), odnosno da se kao rezultat porasta u mišićnim ćelijama povećava broj jedara (Williams i Goldspink, 1971., Allen i sar., 1995) ili da je broj jedara u mišićnim vlaknima veći kod životinja čija su vlakna većeg prečnika (Rehfeldt i sar., 2008), a da se pri atrofiji broj jedara smanjuje (Allen i sar., 1995) ili da je broj jedara po mišićnom vlaknu manji kod vlakana manjeg prečnika

(Rehfeldt i sar., 2008). McCall i sar. (1998), i Bruusgaard i sar. (2003) sugerisu da je broj jedara proporcionalan ili zapremini citoplazme mišićnog vlakna, ili spoljašnjoj površini vlakna. Kadi i sar. (1999) navode da porast broja jedara tokom hipertrofije mišića ne prati proporcionalno povećanje mišićnih vlakana. Broj jedara mogao bi biti ključni faktor u regulaciji porasta mišića, ili posledica ovog procesa (Gundersen i Bruusgaard, 2008), zbog čega su neophodna dalja ispitivanja ove osobine mišićnih vlakana odnosno mišićnog tkiva.

2.1.4 Odnos broja i prečnika mišićnih vlakana

Treba napomenuti interesantnu pojavu antagonizma između debljine i broja mišićnih vlakana. I jedna i druga karakteristika – i debljina i broj mišićnih vlakana u pozitivnoj su korelaciji sa površinom mišića, međutim između debljine i broja mišićnih vlakana postoji negativna korelacija. Što je veći broj vlakana u mišiću, ta će vlakna biti manje debljine, i obrnuto, što su vlakna deblja – njihov je broj u okviru jednog mišića manji. Negativni koeficijenti korelacija utvrđeni su kada su životinje žrtvovane u istom uzrastu (Rehfeldt i sar., 1988, Fiedler i sar., 1997), ili pri istoj telesnoj masi (Staun, 1972, Larzul, 1997), ili čak pri različitom uzrastu i različitoj masi (Osterc, 1974). Obe ove osobine mišićnog tkiva: i broj i prečnik vlakana u pozitivnoj su sprezi sa površinom mišića (Slika 9).



Slika 9. Međusobni odnos površine poprečnog preseka mišića, prečnika mišićnih vlakana i ukupnog broja vlakana na poprečnom preseku mišića, izražen preko koeficijenata korelacije (Rehfeldt i sar., 2000)

2.2 Uticaj različitih faktora na rast mišića i strukturu mišićnog tkiva

Od strukture mišićnog tkiva i njegovog porasta, direktno zavise količina i kvalitet mesa, a ove osobine proizvod su delovanja genetskih, nutritivnih i faktora okoline (Sosnicki i sar., 2003). Zbog toga naredno poglavlje obrađuje uticaje pojedinačnih faktora na rast i osobine mišića.

2.2.1 Naslednost i uticaj selekcije

Naslednost može biti definisana u užem i širem smislu (Falconer, 1981). Definisana u širem smislu pomoću tzv. metoda blizanaca (Komi i Karlsson, 1979), naslednost je granica do koje je individualna varijacija u okviru populacije genetički determinisana. Sa druge strane, naslednost u užem smislu može biti određena pomoću veštačkih selekcijskih eksperimenata (Nakamura i sar., 1993), i predstavlja granicu do koje se individualno variranje u okviru populacije prenosi na narednu generaciju.

Broj mišićnih vlakana i njihova veličina nisu determinisane isključivo genetikom, kako se ranije mislilo obzirom na relativnu konstantnost ovih osobina tokom postnatalnog života. Koeficijenti naslednosti za ove osobine mišićnog tkiva variraju od 0,12 do 0,88, a većina se nalazi između 0,2 i 0,5, pa se danas smatra da bi veoma važan uticaj na ove osobine mogli imati materinski faktori. U Tabeli 3 prikazane su vrednosti koeficijenta heritabiliteta h^2 za najvažnije osobine mišićnog tkiva. Variranja između autora su prisutna usled primene različitih metoda određivanja heritabiliteta.

Tabela 3. Koeficijent naslednosti h^2 broja i prečnika mišićnih vlakana (Rehfeldt i sar., 2000)

Vrsta	Koeficijent naslednosti h^2		Izvor
	Broj vlakana	Prečnik vlakana	
Miševi			
<i>m. extensor digitorum longus</i>	0.23-0.24	0.16-0.21	Rehfeldt i sar. (1988)
Živila			
<i>m. pectoralis superficialis</i>	0.12-0.49	0.00-0.26	Locniskar i sar. (1980)
Svinje			
<i>m. longissimus dorsi</i>	0.43-0.48 0.22	0.30-0.50 0.34	Staun (1972) Larzul i sar (1997)
Goveda			
<i>m. longissimus dorsi</i>	0.35	0.74	Osterc (1974)

Iz serije selekcijskih istraživanja na povećan okvir tela ili brz porast kod svinja (Wicke, 1989, Wicke i sar., 1991) može se zaključiti da se razlike u masi mišićnog tkiva kao

rezultat različitih vidova odgajivanja i selekcije mogu pripisati promenama i u broju i u veličini mišićnih vlakana.

Selekcija na veću masu dovodi do povećanja proliferacije mioblasta i/ili satelitskih ćelija, o čemu se zaključuje na osnovu povećanog broja mionukleusa (jedara) mišićnih ćelija (Knizetzova i sar., 1972, Brown i Stickland, 1994), stvaranja veće količine DNK i time veće ukupne količine mišićne DNK (Knizetzova i sar., 1972). Prema principima porasta mišićnog tkiva, uvećana proliferacija dovodi do formiranja većeg broja mišićnih vlakana. Prema nekim autorima nivo proliferativnog odgovora zavisi od toga kako primenjena selekcija utiče na hormonalni status životinje, pre svega odnos hormona rasta i IGF-a (insulin like growth factor), s obzirom da je IGF veoma važan faktor rasta koji stimuliše proliferaciju mioblasta i satelitskih ćelija (Florini i sar., 1991). Ipak, korelaciju između selekcije i hormonalnog odgovora životinja potrebno je dalje ispitivati.

Promene koje bi se mogle očekivati kao odgovor na primenjenu selekciju mogu se predvideti pomoću genetičkih koeficijenata korelacije. Antagonizam između veličine i broja vlakana zasniva se na genetičkoj povezanosti. Koeficijenti korelacije između veličine i broja vlakana kod miševa, kokoši i svinja variraju od -0,4 do -0,8 (Staun, 1972, Rehfeldt i sar., 1988, Fiedler i sar., 1997, Larzul i sar., 1997). To znači da će se selekcijom na povećanu mišićnu masu zahvaljujući vlaknima većeg prečnika dobiti potomstvo sa manjim brojem mišićnih vlakana.

Kod svinja je uočena pozitivna korelacija između broja mišićnih vlakana ili njihove veličine sa procentom tzv. bezmasnog mesa – lean meat (Larzul i sar., 1997, Rehfeldt i sar., 2000).

Rehfeldt i sar. (2000) nisu pronašli značajnu korelaciju između ove dve karakteristike mišićnog tkiva sa debljinom leđne slanine. Suprotno njima, Larzul i sar. (1997) dobili su negativnu korelaciju (-0,26) između veličine vlakana i debljine leđne slanine.

Korelacije između veličine i broja vlakana i dnevnog prirasta veoma su kontradiktorne prema različitim autorima, i variraju od -0,49 do +0,46 za povezanost prirasta i broja vlakana, odnosno od +0,03 do +0,74 za povezanost prirasta i veličine vlakana (Rehfeldt i sar., 2000, Staun, 1972, Larzul i sar., 1997) (Tabela 4). Prema istraživanju Larzul-a i sar. (1997) povećanje količine bezmasnog mesa u trupu korelira sa veličinom vlakana ($r = 0,47$), ali ne i brojem vlakana ($r = 0,08$). Veličina vlakna, tačnije povećanje veličine vlakana, negativno utiče na tehnološke karakteristike mesa kao što su gubitak vode (sposobnost vezivanja vode), boja, i pH vrednost (Rehfeldt i sar., 2000, Staun, 1972, Larzul i sar., 1997). Korelacija između broja vlakana i kvaliteta mesa je manje jasna.

Tabela 4. Genetičke korelacije između broja i poprečnog preseka vlakana u *m. longissimus dorsi* svinja ($r \pm SE$) i osobina porasta i kvaliteta mesa (Rehfeldt i sar., 2000)

Osobina	Broj vlakana	Poprečni presek vlakana
Prosečan dnevni prirast* (g/dan)	$0,46 \pm 0,15$	$0,03 \pm 0,19$
Debljina leđne slanine (mm)	$-0,05 \pm 0,11$	$-0,12 \pm 0,18$
Procenat bezmasnog mesa	$0,38 \pm 0,12$	$0,52 \pm 0,08$
Gubitak vode (%)	$-0,05 \pm 0,19$	$0,64 \pm 0,25$
Refleksija (17h post mortem)	$-0,05 \pm 0,14$	$0,32 \pm 0,14$
pH (45min post mortem)	$0,13 \pm 0,14$	$-0,37 \pm 0,19$

Brocks i sar. (2000) su ispitivali dva mišića svinja, i dve linije selekcije: na malu debljinu leđne slanine i na brz porast. Ispitivanje je pokazalo da selekcija na malu debljinu leđne slanine rezultira smanjenjem broja oksidativnih, sporo-okidajućih vlakana, i povećanjem glikolitičkih, brzo-okidajućih vlakana, što ima za posledicu povećanje količine tzv. bezmasnog mesa (lean meat). Autori nisu zapazili promene u prečniku vlakana zavisno od primenjene selekcije.

Osim selekcije, na strukturu mišićnog tkiva, i eventualne promene u strukturi tokom miogeneze, mogu uticati i drugi faktori. Neki od njih prikazani su u Tabeli 5.

Tabela 5. Značajnost faktora koji utiču na strukturu mišićnog tkiva (Lefaucheur i Gerrard, 2000)

Faktor	Ukupan broj vlakana	Procentualna zastupljenost tipova vlakana	Prečnik vlakna
Mišić	***	***	**
Vrsta	***	**	*
Rasa	***	**	*
Jedinka	**	**	**
Pol	NS	**	**
Fetalna ishrana	**	*	**
Postnatalna ishrana	NS	*	**
Temperatura ambijenta	NS	**	*
Fizička aktivnost	NS	**	**
Postnatalni promoteri rasta			
Hormon rasta	NS	NS	**
β – agonisti	NS	**	**
Steroidi	NS	**	**

NS p>0,05; * p <0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

2.2.2 Karakteristike mišića

Tip mišića, njegova lokacija i funkcija svakako su najznačajniji faktori koji utiču na zastupljenost različitih vrsta vlakana u okviru mišića (Kłosowska i Fiedler, 2003; Solomon i Dunn, 1988).

Dublje postavljeni mišići čija je funkcija održavanje stava životinje su oksidativni i sadrže više sporo-kontrahujućih oksidativnih vlakana. Površinski mišići koji učestvuju u brzim pokretima određenih delova tela sadrže veći broj glikolitičkih vlakana. Zastupljenost vlakana takođe se veoma može razlikovati i u okviru jednog mišića. Tipičan primer je *m. semitendinosus* kod svinja, gde se u površinskom tzv. svetlom delu nalazi oko 4% vlakana tipa I, a u dubokom sloju mišića tzv. tamnom delu, može se naći i do 45% ovog tipa vlakana (Beermann i sar., 1990).

Kirchofer i sar. (2002) su, na primeru goveda, ustanovili da u istom mišiću, zastupljenost tipova mišićnih vlakana može biti različita. Ona određuje da li će taj mišić biti svrstan u grupu crvenog ili belog mesa. Broj i prečnik β – crvenih, α-crvenih i α-belih mišićnih vlakana su korišćeni za određivanje procenta mišićnih vlakana, površine preseka vlakana i procentualne zastupljenosti vlakana u mišiću. Mišići koji su sadržavali više od 40% β – crvenih vlakana su klasifikovani u grupu crvenog mesa, a oni sa više od 40% α-belih mišićnih vlakana su klasifikovani u grupu belog mesa. Ostali mišići su klasifikovani u grupu prelaznog mesa. Autori navode da funkcionalne i biohemijske

osobine svakog mišića, mogu imati uticaj na karakteristike prerade mesa i kvaliteta za konzum. Međutim, ovaj uticaj još uvek nije jasno definisan.

Sazil i sar. (2005) su, na primeru ovaca, ustanovili da postoje razlike između različitih mišića, iste jedinke, u pogledu zastupljenosti vlakana Tipa I (sporokontrahujuća) i vlakana tipa II (brzokontrahujuća).

Zochowska i sar (2005) su potvrdili da kod divljih svinja postoje razlike u strukturi između tri mišića buta: *m. quadriceps femoris*, *m. biceps femoris* i *m. semimembranosus*. Najveću površinu poprečnog preseka vlakana kao i najveći procenat vlakana tipa I (spora oksidativna) i IIA (brza oksidativna) imali su mišići *m. biceps femoris* i *m. semimembranosus*. Najmanji procenat vlakana tipa I a najveći procenat vlakana tipa IIB (brza glikolitička) imao je mišić *m. quadriceps femoris*.

2.2.3 Vrsta životinje

Vrsta životinje takođe veoma utiče na ukupan broj vlakana, kao i na strukturu tkiva (Rehfeldt i sar., 1999). Zapravo, bilo bi ispravnije reći da veličina tela zavisi više od ukupnog broja vlakana, a manje od dijametra vlakana. To praktično znači da krupnije životinje imaju veći broj vlakana u pojedinim mišićima, ali da je kod različitih vrsta prečnik vlakana veoma sličan. U Tabeli 6 prikazani su dijametri mišićnih vlakana različitih vrsta životinja.

Tabela 6. Prečnik mišićnih vlakana u *m. longissimus dorsi* odraslih jedinki različitih vrsta (Rehfeldt i sar., 1999)

Vrsta životinja	Prečnik mišićnog vlakna (μm)
Kokoš	20
Koza	22
Rovčica	19
Ovca	25
Divlja svinja	72-85
Domaća svinja	40-80
Jelen lopatar	19
Irvas	45
Bivo	26
Zebu	78
Jak	70
Govedo	55-67
Slon	51
Kit	55

Iz ovih podataka možemo uočiti da prečnik vlakana varira od oko $20\mu\text{m}$ do oko $80\mu\text{m}$, što je razlika od četiri puta. Međutim, ako se uporedi okvir tela, razlika između rovčice kao najmanje i kita kao najmasivnije vrste iznosi 2,5 miliona puta. Interesantno je još napomenuti da se vlakna najvećeg prečnika ne nalaze kod najveće vrste (kita ili slona) već kod svinja.

Međutim, zastupljenost različitih vrsta vlakana veoma se razlikuje u zavisnosti od telesnog okvira, pa je kod bikova utvrđena proporcija I, IIA i IIB vlakana u MLD-u: 35%, 24% i 41% (Brandstetter i sar., 1998a), kod svinja rase jorkšir: 10%, 7% i 83% (Larzul i sar., 1997), a kod novozelandskih zečeva: 1%, 6% i 93% (Gondret i sar., 1996), pokazujući jasnu pozitivnu zavisnost većeg procenta sporo-okidajućih oksidativnih vlakana i veličine tela životinje.

2.2.4 Rasa

U okviru iste vrste životinja, ono što najviše utiče na osobine mišićnog tkiva su genetski faktori, u prvom redu rasa. Na primer, kod većine rasa goveda nema značajnih razlika u broju i veličini mišićnih vlakana (Osterc, 1974, Wegner i sar., 2000). Međutim, izuzetak su tzv. double-muscled (u bukvalnom prevodu: duplo-mišićave) rase: Belgijjska plava, Piedmontese, Blond'Aquitaine. Kod ovih rasa goveda nema promena u veličini – prečniku mišićnih vlakana (Wegner i sar., 2000), ali je broj vlakana uvećan zahvaljujući mutacijama miostatin gena (McPherron i sar., 1997), odgovornog za porast i diferencijaciju mišićnih ćelija (Slika 10).



Slika 10. Belgijjsko plavo goveče
(http://www.occupyforanimals.org/uploads/7/7/3/5/7735203/9149001_orig.jpg)

Jasne razlike u broju i prečniku mišićnih vlakana mogu se uočiti poređenjem domaćih i divljih tipova iste vrste životinja. Evropska domaća svinja ima vlakna većeg prečnika u odnosu na svog divljeg pretka (Szentkuti i Schlegel, 1985), a takođe i veći broj vlakana u *m. semitendinosus*-u (Tabela 7). Opšte je prihvaćena ideja da je domestikacija dovela do promene zastupljenosti različitih tipova vlakana u smeru povećanja broja glikolitičkih, a smanjenja broja oksidativnih (Rehelić i Puač, 1981, Solomon i West, 1985).

Tabela 7. Broj mišićnih vlakana i površina poprečnog preseka (LSMeans±SE) u *m. semitendinosus*-u divlje (WP) i domaće svinje (DP) nakon 7 i 20 nedelja starosti (Rehfeldt i sar., 2000)

Broj vlakana ($\times 10^3$)	Nedelja starosti	
	7	20
	WP	DP
Broj vlakana ($\times 10^3$)	611±38	554±29
Površina poprečnog preseka (μm^2)	908±54**	860±54**
Površina poprečnog preseka (μm^2)	407±36	1440±136
	1082±51***	3855±255***

** $p<0.01$; *** $p<0.001$

Između Velikog Jorkšira i minijaturnih rasa iste starosti utvrđene su jasne razlike u broju vlakana, ali ne i prečniku (Stickland i Handel, 1986). Nisu uočene značajne razlike u broju i prečniku vlakana između nekoliko različitih savremenih mesnatih rasa svinja i nešto starije Saddleback rase (Rehfeldt i sar., 2000), o čemu svedoče rezultati prikazani u Tabeli 8. Moguće objašnjenje ovakve pojave je da je kod modernih mesnatih rasa svinja, kao što su Pijetren ili Veliki Jorkšir, broj i prečnik mišićnih vlakana doveden do krajnjih granica mogućnosti selekcije na mesnatost, što bi značilo da bi se morale pronalaziti nove strategije radi postizanja daljih promena u budućnosti.

Tabela 8. Broj i prečnik mišićnih vlakana (MEAN±SD) u *m. longissimus dorsi* kod različitih rasa svinja (Rehfeldt i sar., 2000)

Rasa svinja	n	Broj vlakana ($\times 10^6$)	Prečnik vlakna (μm)
Nemački Landras	694	1,041±0,280	68,9±9,5
Nemački Jorkšir	137	1,016±0,251	70,0±8,4
Leicoma	1052	1,061±0,275	68,6±9,4
Schwerfurter	77	1,109±0,309	68,9±10,7
Pijetren	26	1,107±0,178	71,3±8,8
Saddleback	17	0,909±0,178	67,1±7,8

Lefaucheur i sar. (2003) navode da su, kod odraslih svinja prisutna četiri tipa vlakana i to: spora tip I, i brza tip IIa, IIb i IIx. Kod tovljenika, teških oko 100 kg, zastupljenost navedenih tipova vlakana je 10, 7, 15 i 68 % u MLD-u dok je u romboidnom mišiću 68, 12, 20 i 0 %.

Što se tiče zastupljenosti pojedinih tipova vlakana zavisno od rase, studije na jagnjadima (Solomon i sar., 1981) i govedima (Dreyer i sar., 1977) pokazale su da ranosazrevajuće rase imaju veći procenat α W vlakana, i manji procenat α R vlakana u odnosu na kasno-sazrevajuće rase slične klanične mase ili uzrasta. Slično je utvrđeno i kod svinja.

Kod živine, Nikolić i Vitorović (1998) navode razlike u intenzitetu porasta mišića između pilića lakog i teškog tipa, dok su Ušćebrka i sar. (2008), ustanovili različitu strukturu mišića (grudi i zadnjih ekstremiteta) kod divljih ptica (fazan i jarebica) i domaće živine. Divlje ptice su imale veći procenat intermedijarnih vlakana nego domaće ptice, u svim ispitivanim mišićima. Kod divljih ptica, procenat crvenih i belih vlakana je bio veći u mišićima ekstremiteta nego u grudnoj muskulaturi.

Rede i sar. (1986) poredili su visoko selekcionisane rase Veliki Jorkšir i Švedski Landras sa autohtonim rasama Mangulicom i Crnom Slavonskom, i utvrdili veći procenat belih, glikolitičkih vlakana većeg prečnika (α W) u *m. longissimus dorsi* kod visoko selekcionisanih rasa.

Essen-Gustavsson i Lindholm (1984) dobili su slične rezultate upoređujući divlje svinje i Švedskog Landrasa. Njihovo istraživanje je pokazalo da mišići divljih svinja imaju veći oksidativni kapacitet od mišića Landrasa, što govori o većoj zastupljenosti oksidativnih α R vlakana kod divljih svinja. Suprotno njima, Henckel i sar. (1997) su radeći na *m. longissimus*-u kod velikog jorkšira i landrasa, primetili pozitivnu korelaciju između porasta mišića i aktivnosti nekih oksidativnih enzima karakterističnih za oksidativna mišićna vlakna.

Karlsson i sar. (1993) nisu utvrdili nikakav značajniji efekat selekcije na visok porast mesa na strukturu mišićnih vlakana kod švedskog jorkšira. Slične rezultate na MLD-u velikog jorkšira dobili su i Larzul i sar. (1997).

Velike razlike u rezultatima različitih autora ukazuju da je odnos između strukture mišićnih vlakana i karakteristika porasta još uvek nedovoljno jasan i zahteva dodatna

istraživanja. Isto se to može reći i za dužinu vlakana koja je najslabije proučavana karakteristika u okviru histologije mišića.

2.2.5 Jedinka

Postoji veoma veliko variranje u strukturi mišićnog tkiva između jedinki iste rase odgajanih u istim uslovima. Istraživanje Larzul-a i sar. (1997) pokazalo je variranje u površini α R vlakana u *m. longissimus dorsi* kod velikog jorkšira od 2,1% do 18,4%. Slično variranje primetno je i kod ukupnog broja vlakana. Obe ove osobine – i struktura mišićnog tkiva (zastupljenost pojedinih tipova vlakana), i ukupan broj mišićnih vlakana visoko su nasledni, sa koeficijentima heritabiliteta h^2 od 0.22 do 0.88 (Staun, 1963, Larzul i sar., 1997). Ipak, ne postoji metoda merenja ukupnog broja vlakana na živim životinjama, pa neki autori predlažu uspostavljanje neke vrste markera za procenu ukupnog broja mišićnih vlakana (Lefaucheur i Gerrard, 2000).

2.2.6 Pol

Literaturni podaci o uticaju pola na broj i zastupljenost vlakana u mišićima veoma su različiti. Staun (1963) nije pronašao uticaj pola na broj vlakana kod domaćih životinja. Kod goveda je utvrđeno da se kastracijom značajno povećava udeo glikolitičkih vlakana na račun oksido-glikolitičkih (Dreyer i sar., 1977). Moguće je da polni hormoni, najpre testosteron, utiču na malobrojnost glikolitičkih vlakana kod bikova. Ipak, aplikovanje testosterona kastriranim zamorcima dovelo je do promene oksidativnih α R vlakana u glikolitička α W vlakna (Lyons i sar., 1986).

Kod svinja je veliki broj istraživanja pokazao razliku između ženki i kastrata. Larzul i sar. (1997) ustanovili su veći prečnik mišićnih vlakana kod krmača, ali nisu našli razlike u zastupljenosti pojedinih vrsta vlakana između krmača i nerastova. Ipak, Lefaucheur i Gerrard (2000) utvrdili su značajno veći procenat oksidativnih vlakana kod intaktnih mužjaka u odnosu na ženke, ukazujući na činjenicu da kastracija dovodi do smanjenja broja α R vlakana kod svinja. Velloto i sar. (2010) uočili su kod svinja značajne efekte pola na veličinu vlakana, obzirom da su u svom istraživanju zabeležili statistički značajno veća vlakna kod mužjaka u odnosu na ženke.

Berrard i sar. (2009), i Bee (2004) ukazuju na razlike u zastupljenosti pojedinih vrsta vlakana i karakteristika mišićnog tkiva kod životinja različitog pola u zavisnosti od veličine legla odnosno mase na rođenju. Takođe, moguće je da ispoljavanje uticaja pola na broj i zasupljenost pojedinih tipova vlakana zavisi i od vrste mišića (Te Paas i sar., 2004).

2.2.7 Uticaj okoline

2.2.7.1 Fetalna ishrana

Dotok hranljivih materija je od opšteg značaja za razvoj ploda. Naročito je važna ishrana majke tokom kasne gestacije s obzirom da se u ovom periodu dešava najveći porast ploda. Međutim i pravilna ishrana tokom rane gestacije itekako može imati uticaja na razvoj fetusa, zbog toga što se proliferacija i diferencijacija ćelija različitih tkiva dešava upravo u ovom periodu, što može imati uticaj i na kasniji razvoj (Brameld i sar., 1998). Vršena su različita ispitivanja adekvatne ishrane majki, ili ishrane ispod ili iznad zahteva na razvoj mišićnog tkiva potomstva. Dwyer i Stickland (1992a), i Dwyer i sar. (1995) ispitivali su uticaj 60% i 30% umanjene ishrane bremenitih zamoraca i pacova tokom cele gestacije, ili tokom početnih ili završnih faza gestacije i utvrdili negativne efekte ovakve ishrane na broj mišićnih vlakana koji se formira kod potomstva. Suprotno njima, Beermann (1983) nije našao nikakve efekte smanjene ishrane majki (za 50% od kontrolne grupe) na broj vlakana novorođenih pacova. Prema Zhu i sar. (2006), kod potomstva gravidnih ovaca restriktivno hranjenih u periodu od 21og do 78og dana gestacije na račun smanjena procenata FTO vlakana povećao se procenat FTG vlakana u *m. longissimus dorsi*.

Kod svinja je ispitivan uticaj povećane ishrane tokom različitih faza gestacije odnosno miogeneze na karakteristike mišićnog tkiva potomstva. Dwyer i sar. (1994) i Nissen i sar. (2003) nisu uočili statistički značajne promene broja vlakana nakon povećane ishrane majki tokom različitih perioda miogeneze, mada je broj vlakana imao tendenciju porasta kod potomaka krmača koje su od 25.-50. dana gestacije hranjene duplom količinom hrane u odnosu na kontrolu. Suprotno tome, Gatford i sar. (2003) uočili su značajan pozitivan efekat povećane ishrane krmača na broj mišićnih vlakana kod

potomstva. Što se tiče smanjenog unosa hrane kod suprasnih krmača, veći broj autora se slaže da smanjenje količine hrane dovodi do pojave kržljavosti prasadi (runting), a ako se posmatraju karakteristike mišićnog tkiva, smanjen unos hrane dovodi do smanjenja broja sekundarnih vlakana što za direktnu posledicu ima postnatalno smanjenje potencijala porasta mišića (Wigmore i Stickland, 1983, Handel i Stickland, 1987).

Ustanovljeno je da ishrana gravidnih majki može imati uticaj na broj sekundarnih vlakana u mišićima potomstva (Brameld i sar., 2003). Međutim, značajni efekti nisu ustanovljeni u svim istraživanjima. Razlog tome je, najverovatnije, činjenica da su ispitivanja obavlјana u različito vreme, kao i da je nivo ishrane ili uzrast potomstva čiji je uticaj ispitivan bio različit.

Brameld i sar. (2008) su, kod prasadi, ustanovili da je broj formiranih sekundarnih vlakana zavistan od ishrane. Na primer, poređenjem prasadi male, srednje i velike mase pri rođenju, ustanovljeno je da krupnija prasad imaju veći broj mišićnih vlakana. To je posledica bolje intrauterine ishrane. Udvostručavanje ishrane majki u bilo kom od sledećih perioda: 25-55; 50-80 ili 25-80 dana graviditeta, rezultira povećanjem odnosa sekundarna:primarna vlakna, kod prasadi uzrasta 35 dana. Autori ističu da manipulacije sa ishranom majki, ispoljavaju efekte onda kada je do manipulacije ishranom došlo pre diferencijacije i formiranja mišićnih vlakana. Veći broj istraživanja (Stickland i Handel, 1986, Dwyer i sar., 1993, Rehfeldt i Kuhn, 2006) ukazuje na relativno konstantan broj primarnih vlakana novorođene prasadi, gde ova vlakna čine 3-5% ukupnog broja vlakana, i da ovaj parametar nije podložan uticajima različitih faktora. Ipak, Rehfeldt i sar. (2001a) ukazuju na značajno povećanje broja primarnih vlakana kod potomstva krmača tretiranih somatotropinom tokom rane faze miogeneze, dok Rehfeldt i sar. (2012) ukazuju na smanjenje broja primarnih vlakana kod prasadi pri ishrani majki krmača tokom gestacije obrocima sa smanjenim procentom proteina.

2.2.7.2 Postnatalna ishrana

Ishrana životinja nakon rođenja nema uticaja na broj mišićnih vlakana, što je i logično ako se uzme u obzir činjenica da je broj vlakana određen tokom procesa miogeneze pre

rođenja. Međutim, način ishrane može uticati na prečnik vlakana i na procentualnu zastupljenost određenih tipova vlakana u mišićima.

Kod svinja, i drugih vrsta domaćih životinja, veća količina energije u obroku povećava količinu intramuskularnog masnog tkiva na čiji se račun smanjuje prečnik vlakana, a time i količina tzv. bezmasnog, krtog mesa (lean meat). Shodno tome, restrikcija ishrane dovodi do smanjenja količine masnog tkiva, povećanja prečnika vlakana, i povećanja procentualne zastupljenosti oksidativnih αR vlakana na račun glikolitičkih αW vlakana (Harisson i sar., 1996, Lefaucheur, 1990, Brandstetter i sar., 1998b)

Restrikcija ishrane (30% od ad libitum unosa) kod svinja telesne mase od 7kg do 100kg nije uzrokovala promene u procentualnoj zastupljenosti pojedinih vlakana, ali je dovela do povećanja prečnika vlakana što je u skladu sa smanjenjem količine masti i većom mesnatosti kod ovako hranjenih životinja (Leafucheur, 1989). Restrikcija ishrane 50% od ad libitum unosa u ranijim fazama (između 3-će i 7-me nedelje starosti) nije dovela do promena zastupljenosti vlakana u *m. longissimus*-u, ali je izazvala veoma značajno povećanje (+43%) vlakana tipa I u crvenom *m. romboideus*-u (Harrison i sar., 1996).

Kod krmača u laktaciji koje su dobijale obroke koji nisu zadovoljavali ni uzdržne a ni potrebe za laktaciju dolazi do značajnog gubitka i masnog ali i mišićnog tkiva. U *m. longissimus*-u ovo je praćeno smanjenjem prečnika glikolitičkih vlakana a povećanjem prečnika oksidativnih vlakana, iako je bio smanjen obim i oksidativnog i glikolitičkog metabolizma (Lefaucheur, 1990). Ovo se može objasniti činjenicom da kod krmača nakon prašenja mišićno tkivo predstavlja nekih 40% telesne mase, a sastoji se u najvećoj meri od glikolitičkih vlakana. Zato će upravo ova vlakna organizam krmače koristiti kao izvor proteina, i zbog toga će se njihov broj smanjivati.

2.2.7.3 Temperatura okoline

Dugotrajno izlaganje niskim temperaturama može dovesti do promena u strukturi mišićnog tkiva, na taj način što se povećava obim oksidativnog metabolizma, a to znači i procenat vlakana tipa I (Herpin i Lefaucheur, 1992). Lossec i sar. (1998) istraživali su uticaj nižih (24 do 15°C) i viših (34 do 30°C) temperatura u prvih 5 dana života

novorođene prasadi na strukturu *m. longissimus*-a i *m. romboideus*-a. Rezultati ovog istraživanja pokazali su značajno povećanu zastupljenost vlakana tipa I u oba mišića, povećan obim oksidativnog metabolizma, i nepromenjen obim glikolitičkog metabolizma na nižim temperaturama. Međutim, ostaje da se istraže razlozi ove pojave - da li su promene u strukturi mišićnog tkiva rezultat konstantnog drhtanja (radi zagrevanja tela) prasadi, ili možda izmenjenog metabolizma pojedinih hormona.

2.2.7.4 Fizička aktivnost

Najveći broj istraživača se slaže da fizička aktivnost tj. vežbanje povećava nivo oksidativnog a smanjuje nivo glikolitičkog metabolizma u mišićima koji su uključeni u vežbanje (Essen Gustavsson, 1993). Generalno, povećana aktivnost prouzrokuje prelazak IIB vlakana u IIX pa u IIA i konačno u vlakna tipa I, dok smanjena aktivnost prouzrokuje suprotnu tranziciju iz vlakana tipa I do vlakana tipa IIB. Ipak, istraživanja uticaja električnih stimulusa na strukturu mišića nisu najpodobnija za predviđanje efekata spontanog vežbanja koje se javlja recimo kod držanja životinja u slobodnom sistemu (Petersen i sar., 1998) na zastupljenost pojedinih tipova vlakana u mišićnom tkivu.

Iako neka istraživanja pokazuju promenu zastupljenosti pojedinih tipova vlakana usled vežbanja, odnosno slobodnog kretanja u „obogaćenom okruženju“, većina autora smatra da su te promene minorne ili dvosmislene (Te Paas i sar., 2004). Sa druge strane, intenzivna proizvodnja, naročito u svinjarstvu, praktično i ne ostavlja mnogo prostora za vežbanje kao mogućnost izmena strukture mišićnog tkiva.

2.2.8 Uticaj veličine legla i mase na rođenju

Tokom poslednjih godina selekcija u svinjarstvu bila je usmeravana i na povećanje broja prasadi u leglu, što za posledicu ima sve veće razlike u masi prasadi u okviru istog legla, i opšte smanjenje mase prasadi na rođenju (Quiniou i sar., 2002). Moguće objašnjenje ove pojave jeste manje izraženo povećanje dotoka hranljivih materija fetusa u odnosu na povećanje veličine legla (Perre i Etienne, 2000), odnosno mnogo jače izražena kompeticija za hranljive materije između fetusa *in utero*, što dovodi do

smanjenja mase fetusa i mase prasadi na rođenju sa povećanjem veličine legla (Quiniou i sar., 2002).

Town i sar. (2004) su ustanovili da su, kod krmača sa većim brojem fetusa (i potencijalno većim leglom) fetusi imali manju masu, manju masu mišića, površinu poprečnog preseka mišića kao i manji ukupni broj sekundarnih vlakana, u odnosu na krmače sa manjim brojem fetusa (hirurški je odstranjen jedan jajovod). Međutim, broj primarnih vlakana, odnos primarna:sekundarna vlakna kao i zastupljenost tipova mišićnih vlakana se nije značajno razlikovao.

Veliki broj autora saglasan je da je kod prasadi veće mase na rođenju, veći i ukupan broj mišićnih vlakana (Wigmore i Stickland, 1983, Dwyer i Stickland, 1991, Rehfeldt i sar., 2001, Nissen i sar., 2004, Rehfeldt i Kuhn, 2006), i da ova razlika nastaje ili usled povećanja broja sekundarnih vlakana koje se formiraju oko svakog primarnog (Wigmore i Stickland, 1983), ili usled povećanja i broja primarnih vlakana i odnosa sekundarna:primarna vlakna (Dwyer i Stickland, 1991).

Novija istraživanja (Rehfeldt i Kuhn, 2006, Gondret i sar., 2006, Berard i sar., 2008) pokazuju da prasad manje mase na rođenju imaju sporiji porast i da su mišićna vlakna na kraju tova znatno većeg prečnika (Gondret i sar., 2006). Kod ovakvih jedinki je veći sadržaj masti u trupu, veći deo nepoželjnih gigantskih vlakana u mišićnom tkivu, i lošiji kvalitet mesa u pogledu sposobnosti zadržavanja vode i mekoće mesa (Rehfeldt i Kuhn, 2006). Rehfeldt i Kuhn (2006) pretpostavili su da je kod prasadi manje mase na rođenju manji broj vlakana u mišićnom tkivu, zbog čega je hipertrofija vlakana izraženija. Takve jedinke dostižu maksimum porasta mišićnih vlakana brže nego prasad veće mase na rođenju, pa se nakon dostizanja platoa porasta mišića dostupna energija koristi za deponovanje masti.

Zbog svega navedenog, postavlja se pitanje da li selekcija i dalje treba da ide u smeru povećavanja broja prasadi u leglu. Berard i sar. (2008) ukazuju da je uticaj veličine legla na porast, osobine trupa i kvalitet mesa samo posredan, i da se zapravo ostvaruje kroz inverznu korelaciju sa masom na rođenju. Sa druge strane, Beaulieu i sar. (2010) su u

svom istraživanju potvrdili da veličina legla utiče na masu prasadi na rođenju, da prasad manje mase na rođenju nešto sporije dostižu klaničnu težinu, ali da masa na rođenju nije bitnije uticala na sastav trupa ili kvalitet mesa za konzum.

2.2.9 Uticaj faktora rasta i hormona

U regulaciju mišićnog rasta i diferencijacije mišićnih ćelija uključen je, dakle, veliki broj faktora: od spoljašnjih faktora okoline, preko unutrašnjih genetskih faktora, sve do faktora rasta (growth factors) i hormona koji na ćelijskom nivou stimulišu ćelije u razvoju preko receptora i faktora transkripcije. Ispitivanja molekularnih signala koji indukuju miogenezu novijeg su datuma, bila su omogućena razvojem sve osjetljivijih „bioloških alata“. Ovakva istraživanja započeta su na vinskoj mušici *Drosophila melanogaster*, i dovela su do fundamentalnih otkrića o molekularnim mehanizmima koji su uključeni u razvoj organa i tkiva, a koja se mogu primeniti na gotovo sve životinjske vrste (Hossner, 2005). Utvrđeno je da su mnogi od proteina koji deluju kao međućelijski signali ili unutarćelijski faktori transkripcije gotovo identični kod poptuno različitih vrsta, od valjkastih crva do čoveka. Ovakvo očuvanje strukture i funkcije genskih produkata kod potpuno različitih organizama ukazuje na ogroman značaj biohemijskih signala i njihovu centralnu ulogu u razvojnim procesima koji određuju formu i funkciju odraslog organizma (Hossner, 2005).

2.2.9.1 Mišićni regulatorni faktori (MRF)

Ovo su faktori transkripcije koji utiču na opredeljivanje ćelija na miogenezu i indukuju diferencijaciju mišićnih vlakana. Kod kičmenjaka postoje četiri mišićna regulatorna faktora (Hossner, 2005): Myf5 (myogenic factor 5), MyoD (myogenin determination factor D), MRF4 i miogenin. Myf5 i MyoD igraju ključnu ulogu u „regrutovanju“ i usmeravanju ćelija ka liniji miogeneze. Ukoliko jedan od ovih faktora nije prisutan u embrionu, drugi će preuzeti njegovu ulogu, međutim ako oba izostanu u embriogenezi – nema uopšte mioblasta niti formiranja mišićnog tkiva. Zbog toga se ova dva faktora smatraju primarnim mišićnim regulatornim faktorima. Miogenin i MRF 4 su sekundarni faktori u regulaciji miogeneze, javljaju se kasnije tokom embrionalnog razvoja i uslovjavaju završne procese diferencijacije mišićnih ćelija.

2.2.9.2 Insulinski faktori rasta

Insulinski faktori rasta (insuline like growth factors, IGFs): IGF I, IGF II i insulin, su jedinjena koja pripadaju grupi faktora rasta (growth factors, GF), a koja imaju centralnu ulogu u razvoju, diferencijaciji i funkciji mišićnog tkiva. Ovo je grupa jedinjenja koju proizvodi i jetra, ali i ćelije mišićnog tkiva uključujući mioblaste, satelitske ćelije, mišićna vlakna i fibroblaste. To praktično znači da ovi sveprisutni faktori mogu delovati na mišićno tkivo endokrinim, parakrinim ili autokrinim mehanizmima. Kako sumira Hossner (2005), hormon rasta – GH, verovatno nema direktnе anaboličke efekte na mioblaste, satelitske ćelije ili miotubule, već su njegovi efekti zapravo rezultat posrednog delovanja preko IGF faktora. U mišićnom tkivu, IGF faktori povećavaju iskorišćavanje glukoze i amino-kiselina, smanjuju nivo proteolize a povećavaju nivo sinteze proteina. Takođe utiču na prekurzore mišićnih ćelija povećavajući njihovu proliferaciju i diferencijaciju. Svaki od IGF faktora ima svoj odgovarajući receptor u tkivu. Nedostatak bilo nekog od faktora rasta, bilo njegovog receptora u mišićnom tkivu dovodi do ozbiljnih poremećaja u razvoju, i vrlo često do smrti jedinke neposredno nakon rođenja.

Suprotno tome, Mathews i sar. (1988) utvrdili su da je porast mišićnog i koštanog tkiva bio za oko 30% veći kada su koncentracije (nivoi) IGF I u cirkulaciji bili za 50% veći nego kontrolne vrednosti. Buonomo i Klindt (1993), Owens i sar. (1999), Klindt i sar. (1998) uočili su kod svinja u porastu pozitivnu korelaciju između koncentracije IGF I u krvi i količine bezmasnog mesa sa jedne strane, i koncentracije IGF II u krvi i deponovanja masnog tkiva (debljine leđne slanine).

Efekti IGF faktora na miogenezu zavise od stadijuma razvoja mioblasta. U ranim fazama razvoja IGF faktori stimulišu proliferaciju. Nastavak stimulacije ćelija IGF-om dovodi do ćelijske diferencijacije, uz aktiviranje ekspresije miogenina, MyoD i Myf5. Osim na miogenezu, IGF faktori indukuju i održavanje i rast odraslog (zrelog) mišićnog tkiva. Kod odraslih životinja rast mišićnog tkiva odvija se na osnovu proizvodnje jedara od strane satelitskih ćelija i dodavanja tih jedara mišićnim vlaknima. Veći broj istraživanja pokazao je da IGF faktori indukuju proliferaciju satelitskih ćelija, diferencijaciju i fuziju tj. stvaranje miotubula.

2.2.9.3 Miostatin

Miostatin je negativni regulator mišićnog rasta. On inhibira diferencijaciju, tako što inhibira ekspresiju mišićnih regolatornih faktora MyoD i miogenina, odnosno proliferaciju mioblasta (Thomas i sar., 2000, Hossner, 2005). Ako se mioblasti tretiraju miostatinom, ćelijska proliferacija, sinteza DNK i proteina se smanjuju. Najjednostaviji primer je primer „double-muscled“ fenotipa goveda, kod kojih se zapravo javlja prirodna mutacija miostatin gena koja za posledicu ima neaktivan molekul miostatina. Kod ovakvih jedinki ne uvećava se broj mišića, već se javlja izražena hipertrofija, povećanje broja mišićnih vlakana a time i celokupne mišićne mase.

2.2.9.4 Hormoni

2.2.9.4.1 Hormon rasta

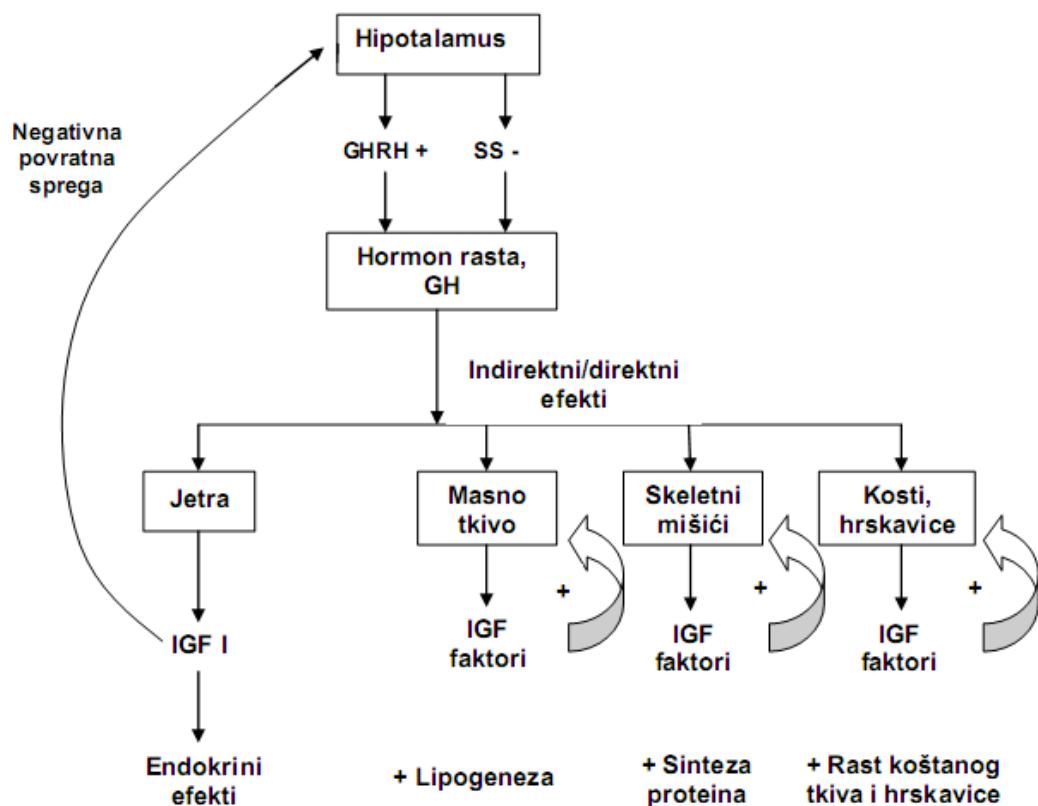
Hormon rasta (growth hormone, GH) ili somatotropin (ST), je protein koji se sintetiše i izlučuje iz hipofize. Osamdesetih godina dvadesetog veka, sa proizvodnjom rekombinantnog ST, počela su obimna istraživanja uticaja ovog hormona na rast i laktaciju, uz istovremeno ispitivanje mogućnosti njegove komercijalne upotrebe.

Ispitivanja na svinjama (sumirano u Etherton i Bauman, 1998) su pokazala da somatotropin ima efekte na raspodelu hranljivih materija između mišića i masnog tkiva, dovodeći do povećanja količine bezmasnog mesa. Dnevna primena pST-a u dozama preko 100 µg po kg telesne mase, kod svinja u tovu u trajanju 30-77 dana može povećati dnevni prirast 10-20%, poboljšati iskorišćavanje hrane za 13-33%, smanjiti deponovanje masti i do 70%, i stimulisati akumulaciju proteina (rast mišića) i do 62%.

Takođe, apliciranje hormona rasta u različitim intervalima suprasnosti može imati statistički značajne efekte na mišiće potomaka. Tretiranje suprasnih krmača hormonom rasta u periodu 10-24 dana suprasnosti povećava broj vlakana kod podmlatka (Rehfeldt i sar., 1993), i utiče na poboljšanje uslova rasta i povećanje telesne mase manje prasadi (Rehfeldt i sar., 2001). Ukoliko se hormon rasta aplikuje u kasnijim fazama: od 25-50-

og dana, od 50-64-og, ili od 80-94-og dana suprasnosti nije uočena promena u broju mišićnih vlakana kod potomstva (Rehfeldt i sar., 1993, Gatford i sar., 2003).

Mehanizam delovanja somatotropina na rast nije u potpunosti poznat. Veliki broj autora smatra da somatotropin ne deluje direktno na ciljne ćelije, već stimuliše lučenje IGF faktora u jetri i drugim tkivima, koji potom indukuju različite odgovore u različitim tkivima. U prilog ovoj teoriji ide i činjenica da somatotropin ne prolazi kroz placentu, pa ipak se kod prasadi čije su majke dobijale somatotropin zapažaju promene u masi, broju mišićnih vlakana itd. (Rehfeldt i sar., 1993, Rehfeldt i sar., 2001). Ovakva međusobna sprega hormona rasta i IGF faktora naziva se somatomedin osa (Slika 11).



Slika 11. Šematski prikaz somatomedin osa, i uticaja hormona rasta preko IGF faktora na različita tkiva (Hossner, 2005)

Ipak, istraživanje koje su sproveli Klindt i sar., 1998., ispitujući dejstvo somatotropina, IGF I, i kombinacije ova dva faktora pokazalo je da je efekat samog somatotropina na povećanje deponovanja proteina i povećanje količine bezmasnog mesa znatno veći od efekta bilo pojedinačnog IGF I, bilo kombinacije somatotropin + IGF I, ukazujući na

mogućnost direktnog delovanja somatotropina na target ćelije. U ovom istraživanju sam somatotropin povećao je dnevni prirast za 43%, količinu proteina u trupu za 88%, količinu bezmasnog mesa za 16%. Sam IGF I povećao je dnevni prirast za 22%, količinu proteina u trupu za 33% a količinu bezmasnog mesa za 5%. Efekti zajedničkog aplikovanja ST + IGF I, bili su isti kao kada je aplikovan sam ST.

Veći broj autora proučavao je efekte dodavanja hormona rasta suprasnim krmačama na porast i karakteristike mišićnog tkiva potomaka. Gatford i sar. (2004) uočili su efekte dugotrajne aplikacije hormona rasta (od 25-og do 100-og dana suprasnosti) krmačama koje su bile na restriktivnoj ishrani čije je potomstvo na rođenju imalo veću masu i dužinu tela. Ovi autori takođe su zapazili manji pad mase prasadi sa povećanjem legla kod krmača koje su tretirane hormonom rasta.

Rehfeldt i sar. (2001) zapazili su da aplikovanje hormona rasta krmačama u periodu od 10-og do 27-og dana suprasnosti dovodi do povećanja mase samo one prasadi koja su pripadala grupi najlakših prasadi u leglu. Kuhn i sar. (2004) takođe su ispitivali uticaj dodavanja hormona rasta u periodu 10-27-og dana gestacije, a rezultati su potvrdili povećanje mase samo kod najmanje prasadi, dok se masa prasadi koja su pripadala srednjoj i najvišoj težinskoj kategoriji smanjivala kod krmača tretiranih ST-om. Osim ovoga, kvalitet mesa kod tovljenika čije su majke tretirane hormonom rasta bio je lošiji, u smislu većeg sadržaja intramuskularne masti i većeg gubitka vode. Rehfeldt i sar. (1993) i Rehfeldt i sar. (2001) utvrđili su povećanje broja vlakana kod krmača tretiranih hormonom rasta u periodu od 10-27-og dana suprasnosti, odnosno kod krmača tretiranih u periodu od 84-90-og dana suprasnosti.

2.2.9.4.2 Hormoni štitne žlezde

Poznato je da nedostatak hormona štitne žlezde može prouzrokovati veoma ozbiljne poremećaje u rastu i razvoju. Ovi hormoni igraju veoma važnu ulogu u razvoju centralnog nervnog sistema, ali obzirom da oni regulišu korišćenje energije i kiseonika u svim tkivima, tako su veoma važni i za normalan razvoj mišićnog tkiva (Muscat i sar., 1995). Jacobs i sar., 1996., ukazali su na smanjenu mogućnost satelitskih ćelija da se

diferenciraju i spajaju u mišićne ćelije kod hipotiroidnih pacova u prvih 40 dana postnatalnog života. Sa druge strane, izlaganje prevelikim dozama tireoidnih hormona dovodi do degradacije proteina i atrofije mišića. Zbog toga je korišćenje hormona štitne žlezde kao eventualnih promotera rasta potpuno isključeno.

2.2.9.4.3 *Polni hormoni - estrogen*

Polni hormoni su proizvodi polnih žlezda – jajnika (i placente), i testisa. Ženski polni hormoni su estrogen i progesteron, a muški testosteron. Njihova je uloga da obezbede normalan rad polnih organa u cilju regulacije reprodukcije, a takođe utiču i na ispoljavanje sekundarnih polnih karakteristika.

Preživari su jedina vrsta domaćih životinja kod kojih je ustanovljen nedvosmislen pozitivan efekat estrogena na porast mišićne mase, povećanje dnevnog prirasta, iskorišćavanje hrane uz minimalna povećanja konzumiranja hrane, i smanjenje deponovanja masti. Nakon sintetisanja dietilstilbestrola, DES, krajem tridesetih godina prošlog veka, ispitivan je uticaj ovog sintetičkog estrogena na proizvodne karakteristike domaćih životinja, i kako je pokazan povećan dnevni prirast kod junica, ovaca i živine, DES je patentiran kao stilbestrol i korišćen sve do 1979. godine kada je zabranjen kao potencijalno karcinogen. Međutim, u nekim zemljama i dalje se koriste slična jedinjenja (estradiol 17 β , estradiol benzoat, zeranol, dienestrol...) kao promoteri rasta u govedarstvu.

Estrogeni imaju mnogo manje efekata kod nepreživara. Kod intaktnih mužjaka – nerasta, aplikovanje estrogena povećava unos hrane ali i njeno iskorišćavanje, a time povećava prirast, smanjuje karakterističan nepoželjan miris mesa, ali i u manjoj meri povećava količinu masnog tkiva (Hancock i sar., 1991). Kod kastrata i nazimica pozitivni efekti estrogena su ograničeni, a sa druge strane estrogen uslovljava povećan razvoj vimena, smanjujući time mogućnost upotrebe stomaka za slaninu (Hancock i sar., 1991).

Mehanizam delovanja estrogena na porast svinja nije potpuno razjašnjen. Rempel i Clapper (2002), i Hilleson-Gayne i Clapper (2005) su u svojim istraživanjima utvrdili zavisnost koncentracije IGF-a od 17β estradiola, gde je aplikacija estradiola dovodila do povećanja koncentracije IGF-a u serumu (Rempel i Clapper, 2002), a smanjivanje koncentracije estradiola u serumu uz pomoć inhibitora dovodilo je do smanjenja koncentracije IGF-a (Hilleson-Gayne i Clapper, 2005). Prema ovim autorima, dakle, estradiol bi posredno preko IGF ose mogao imati uticaj i na porast svinja. Najizraženije efekte estradiola na promene u koncentraciji IGF-a ovi autori su zapazili kod nerasta.

Sa druge strane, ispitujući uticaj estrogena *in vitro* - na kulture mišićnih ćelija svinja, Mau i sar. (2008) nisu primetili gotovo nikakve efekte na proliferaciju mišićnih ćelija pri fiziološkim koncentracijama, ali je zato zapaženo inhibitorno dejstvo estrogena na proliferaciju mišićnih ćelija ukoliko je estrogen aplikovan u suprafiziološkim koncentracijama. Do sličnih zaključaka došli su Tsai i sar. (2007), utvrdivši *in vivo* smanjenje telesne mase i nivoa IGF-a u mišićima kod ovariekтомisanih ženki pacova sa implantom koje je sadržao estradiol 17β . Enns i Tiidus (2010), uočili su stimulirajuže dejstvo estrogena u obnavljanju mišićnog tkiva kod ljudi nakon povreda, preko aktivacije i proliferacije satelitskih ćelija. Moguće je da su različiti rezultati u pogledu efekata estrogena posledica različitih polova koji su korišćeni u različitim eksperimentima, ili korišćenja estrogena u kombinaciji sa androgenim agensima.

Evidentno je da je mehanizam delovanja estrogena na mišićno tkivo različit u zavisnosti od vrste, pola, uzrasta, pa čak i faktora okoline. Rasvetljavanje ovih mehanizama zahteva dodatna istraživanja.

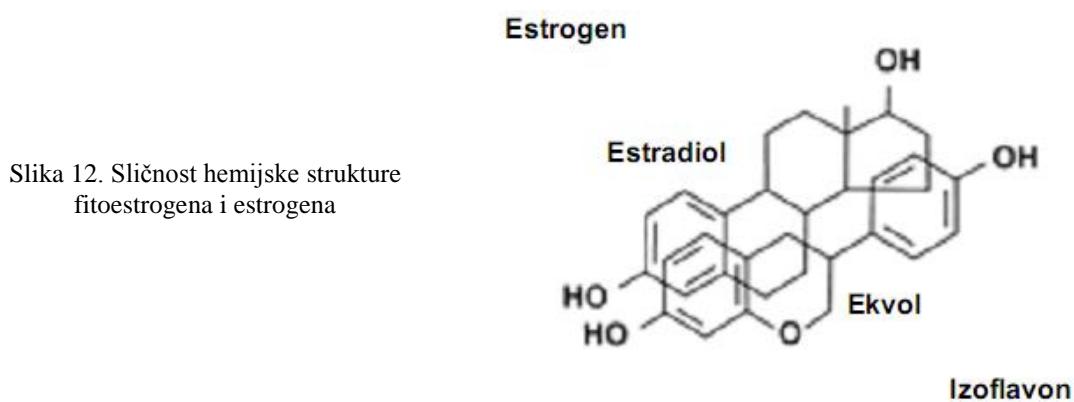
2.3 Izoflavoni – Fitoestrogeni

Mnoge biljne vrste koje se koriste bilo u ishrani ljudi, bilo kao hrana za životinje imaju sposobnost da indukuju reakcije organizma slično hormonima. Veoma dobro poznat primer estrogenog dejstva biljaka je tzv. „clover disease“ – pojava dugoročne neplodnosti kod ovaca na ispaši detelinom (Fritsche i Steinhart, 1999).

Fitoestrogeni predstavljaju grupu hemijskih jedinjenja biljnog porekla, koja imaju estrogena ili antiestrogena dejstva. Ova jedinjenja identifikovana su u preko 300 različitih biljaka (Tham i sar., 1998), kao što su: beli luk, peršun, soja, detelina, lucerka, pšenica, ječam, pirinač, šargarepa, krompir, jabuka, kruška, grožđe i dr.

Zajedničke osobine svih fitoestrogena su da im je hemijska struktura veoma slična strukturi estrogena (Slika 12), da u organizmu imaju sposobnost vezivanja za estrogene receptore, i izazivanja bilo estrogenih, bilo antiestrogenih reakcija metabolizma, zavisno od njihove koncentracije, koncentracije endogenog estrogena i individualnih karakteristika jedinke, pre svega pola i hormonalnog statusa (Tham i sar., 1998).

U hrani koja je standardno u upotrebi kako za ishranu ljudi, tako i za ishranu životinja, najviše su zastupljene dve kategorije fitoestrogena: izoflavoni i lignani. Pored ove dve grupe, postoji i treća grupa fitoestrogena – kumestani. Za razliku od veoma široko prisutnih lignana, izoflavoni se nalaze skoro isključivo u leguminozama, a naročito bogat izvor ovih jedinjenja je soja (Tham i sar., 1998, Reinli i Block, 1996). Dva jedinjenja iz grupe izoflavona koja se danas najintenzivnije proučavaju su daidzein i genistein, a pored njih u soji je prisutan i glicitein, ali u znatno manjim količinama.



Slika 12. Sličnost hemijske strukture fitoestrogena i estrogena

Koncentracija izoflavona u različitim proizvodima od soje varira od 0,1 do 3mg/g hraniva, a zavisi od sorte soje, lokacije uspevanja, zrelosti biljke, i posebno od načina obrade. Tako npr. sojine viršle ili tofu jogurt mogu sadržati samo deseti deo količine izoflavona koji se nalazi u celom zrnu soje (0,2-0,3 prema 2-4 mg izoflavona/g) (Tham i sar., 1998). Ipak, i ovako obrađeni proizvodi sadrže znatno veću količinu izoflavona u

odnosu na druge biljne vrste. Ukupan sadržaj izoflavona, i količine daidzeina i genisteina u pojedinim proizvodima od soje prikazani su u Tabeli 9.

Tabela 9. Količina izoflavona u različitim proizvodima od soje, mg izoflavona/kg hraniva

Proizvod	Ukupno izoflavona	Daidzein	Genistein	Izvor
Zrno soje 1	1176	365	640	
Zrno soje 2	4215	1355	2676	
Prženo zrno soje	2661	941	1426	
Sojino brašno	2014	412	1453	
Tofu	532	238	245	
Tempeh	865	405	422	
Miso	647	272	281	
Sojina sačma	/	395-488	506-695	Tham i sar., 1998
Sojine ljuspice	/	< 0,1	18,4	Fritsche i Steinhart, 1999
Sojine flekice	/	363-475	1275-1547	

Izoflavoni se mogu naći u jednom od sledeća četiri oblika:

- kao nekonjugovani aglikani (daidzein, genistein)
- kao konjugovani β -glikozidi (daidzin, genistin)
- kao acetil-glikozidi
- kao malonil-glikozidi

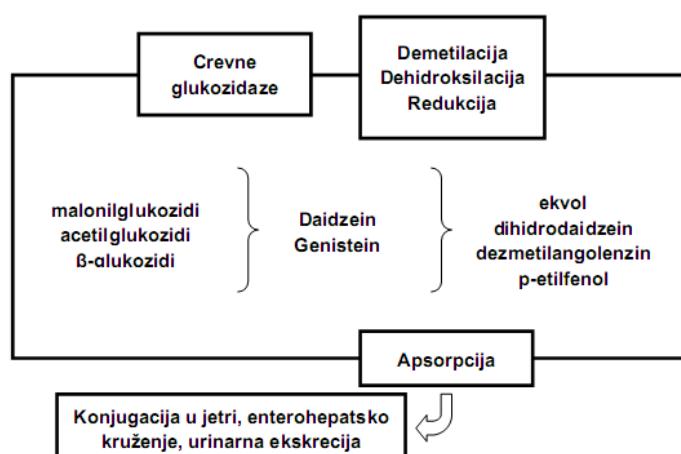
Hemijski oblik u kome se izoflavoni nalaze veoma je važan, jer može uticati na dostupnost, biološku aktivnost i konačno – fiziološke efekte ovih jedinjenja (Setchell i Cassidy, 1999). U biljkama se izoflavoni javljaju uglavnom kao glikozidi, s tim što su acetil- i malonil-glikozidi jedinjenja veoma osetljiva na temperaturu, i lako se konvertuju do stabilnijih β -glikozida (Barnes i sar., 1994).

2.3.1 Metabolizam izoflavona

Nakon gutanja i dospevanja hraniva do želuca, konjugovani izoflavoni bivaju hidrolizovani do bioaktivnih aglikana, daidzeina ili genisteina. Hidroliza se odvija uz pomoć crevnih glikozidaza, za koje se smatra da su mikrobiološkog porekla. Daidzein i genistein mogu biti ili absorbovani kao takvi, gde nakon absorpcije idu do jetre i dalje se transofrmišu, ili se ova jedinjenja dalje metabolišu do specifičnih metabolita uključujući i najaktivniji ekvol (Setchell i Cassidy, 1999.) (Slika 13). Ovakva šema metabolizma je veoma zavisna i od drugih komponenata ishrane.

Veći sadržaj ugljenih hidrata pospešuje biotransformaciju fitoestrogena i sintezu ekvola (Setchell i Cassidy, 1999), dok povećani sadržaj masti smanjuje sposobnost mikroflore da razgrađuje daidzein i sintetiše ekvol (Ren i sar., 2001). Ipak, ključnu ulogu u biotransformaciji izoflavona ima prisustvo različitih populacija mikroorganizama u digestivnom traktu (Setchell i Cassidy, 1999). Utvrđeno je da upotreba antibiotika blokira metabolizam izoflavona, kao i da odojčad u prvim mesecima života kada još uvek nije formirana stomačna mikroflora nisu sposobna za sintezu ekvola (Setchell i Cassidy, 1999).

Takođe, kod preživara absorpcija izoflavona dešava se već u buragu, a u krvnoj plazmi se detektuje 95-99% ekvola u konjugovanoj formi. Kod svinja metabolizam izoflavona nije potpuno razjašnjen, a količina konjugovanog ekvola u plazmi je znatno niža nego kod preživara – 50-70% (Ren i sar., 2001).



Slika 13. Glavne biotransformacije u metabolizmu izoflavona u organizmu ljudi i životinja (Setchell i Cassidy, 1999)

2.3.2 Fiziološki efekti izoflavona

Nakon konzumiranja soje, izoflavoni, transformisani najpre od strane mikroorganizama, ulaze u cirkulaciju gde dostižu koncentraciju nekoliko puta veću od koncentracije endogenog estrogena. Još 1946. godine Bennetts i sar. (1946) utvrdili su da su izoflavoni uzrok pojave neplodnosti kod ovaca na ispaši detelinom. Međutim, posebna pažnja proučavanju ovih jedinjenja usmerava se nakon otkrića Akyame i sar. 1987., koji

su utdvrđili da je genistein moćan inhibitor protein tirozin kinaza – grupe enzima koja ima ključnu ulogu u formiranju i nekontrolisanom rastu ćelija raka. U isto vreme, porast opšte svesti o znatno učestalijoj pojavi različitih oboljenja a naročito hormon-zavisnih tumora u zapadnim zemljama o odnosu na istočne zemlje, prvenstveno Japan i Kinu, naveo je naučnu populaciju na sve opsežnija istraživanja soje koja dominira u ishrani ljudi u zemljama dalekog istoka, i fitoestrogena koji se u soji nalaze, i koji bi se mogli koristiti u prevenciji i lečenju tumora.

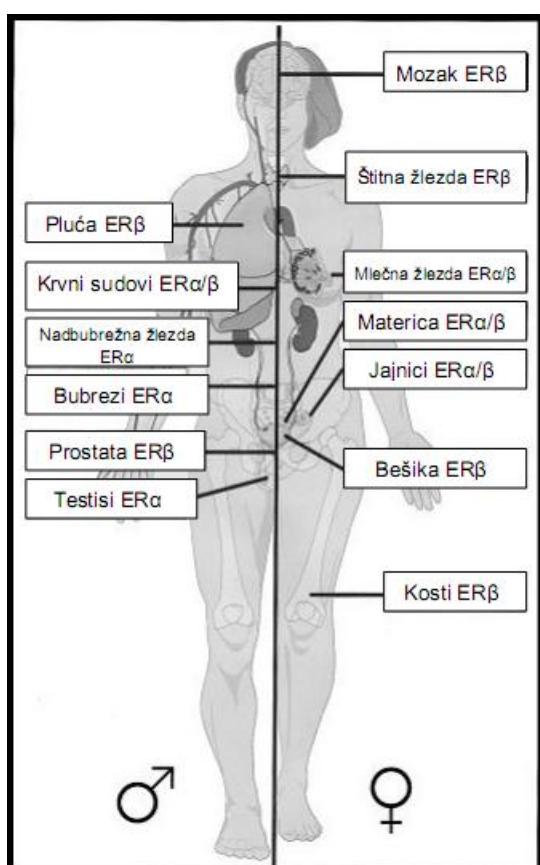
Najpre se prepostavljalo da bi fitoestrogeni u organizmu izazivali hormonalne reakcije, slično endogenom estrogenu. Međutim dalja istraživanja pokazala su i mnoge druge, kako *in vivo*, tako i *in vitro* efekte fitoestrogena (Setchell, 1998.), i da zapravo ova jedinjenja putem različitih mehanizama:

- imaju antikancerogene efekte
- smanjuju rizik od kardio-vaskularnih bolesti
- smanjuju nivo holesterola u krvi
- ublažavaju osteoporozu
- ublažavaju simptome menopauze

Hemijska struktura izoflavona veoma je slična hemijskoj strukturi estrogena, što objašnjava sposobnost ovih jedinjenja da se vezuju za estrogene receptore (ER), i da u organizmu izazivaju efekte slične estrogenu. Međutim, zbog kompeticije sa endogenim estrogenom prema ER, izoflavoni deluju i kao antagonisti ovom hormonu. To praktično znači da će se izoflavoni ponašati ili kao endogeni estrogen, ili blokirati aktivnost endogenog estrogena, u zavisnosti od koncentracije, broja ER, koncentracije endogenog estrogena, vrste tkiva i drugih faktora. U *in vivo* uslovima predviđanje akcije izoflavona još je komplikovanije, jer uključuje i zavisnost efekata izoflavona od načina administracije, hemijske forme izoflavona, njihovog metabolizma, biološke dostupnosti, dužine izlaganja ovim jedinjenjima, statusa endogenog estrogena itd.

Otkriće još jednog tipa estrogenog receptora – ER β (Kuiper i sar., 1996a) delimično razjašnjava različite efekte estrogena u različitim tkivima. Prvobitno poznati, „klasični“

estrogeni receptori ER α , i novootkriveni ER β , moguće da imaju različite uloge u genskoj regulaciji, a takođe se razlikuje i zastupljenost ovih receptora u različitim tkivima. Tako je kod pacova utvrđeno prisustvo ER α u materici, testisima, jajnicima, bubrežima, epididimisu, štitnoj žlezdi, a ER β najviše je zastupljen u prostati, plućima, bešici, mozgu (Kuiper i sar., 1996. a, b; Setchell i Cassidy, 1999). Zastupljenost različitih tipova estrogenih receptora u organizmu čoveka prikazano je na Slici 14. Prisustvo različitih tipova receptora kod različitih vrsta životinja prikazano je u Tabeli 10. Ono što je još veoma važno jeste da je afinitet različitih estrogenih jedinjenja različit prema dva tipa estrogenih receptora, a konkretno fitoestrogeni imaju značajno veći afinitet prema ER β nego prema ER α (Kuiper i sar. 1998).



Slika 14. Zastupljenost estrogenih receptora ER α i ER β u telu čoveka (Setchell i Cassidy, 1999)

Tabela 10. Prisustvo pojedinih tipova estrogenih receptora kod različitih vrsta životinja (Kalbe i sar., 2007)

Vrsta životinja	Tip estrogenog receptora
Pacovi	ER α
Miševi	ER α , ER β
Ovce	ER
Zečevi	ER
Goveda	ER α , ER β
Čovek	ER α , ER β
Živila (kokoška)	ER α , ER β

Istraživanja prisustva i uloge estrogenih receptora u mišićnom tkivu novijeg su datuma. Wiik i sar. (2009) utvrdili su postojanje oba tipa receptora u mišićima ljudi, oba pola, i različitog uzrasta. Njihovo istraživanje pokazalo je prisustvo ER i u jedrima samih mišićnih vlakana, i u kapilarima koji okružuju vlakna. Iste nalaze dobili su Kalbe i sar. (2007) pri ispitivanju nekoliko mišića svinja, i prvi potvrđili prisustvo ER α i ER β u mišićnom tkivu kod ove vrste životinja. To znači da i mišično tkivo predstavlja ciljno tkivo za delovanje estrogena, kako endogenog, tako i onih supstanci koje oponašaju estrogen, a među koje spadaju i izoflavoni.

2.3.3 Uticaj izoflavona na mišično tkivo

Zbog sposobnosti da oponašaju estrogen, moguće je da bi izoflavoni mogli uticati na rast i sastav trupa kod svinja. Primena različitih estrogenih jedinjenja u svinjarskoj proizvodnji dovodi do smanjenja masti u trupu i povećava mišićavost (Lee i sar., 2005, Bidner i sar., 1972).

Međutim, rezultati autora koji su ispitivali uticaj izoflavona na mišično tkivo kod različitih vrsta životinja, i porast i kvalitet trupa uopšte, veoma se razlikuju.

Payne i sar. (2001) ispitivali su uticaj tri nivoa izoflavona u hrani za kastrate i nazimice u tovu. Kastrati su dobijali: 1. sojinu sačmu (1,14 mg/g ukupnih izoflavona); 2. sojin protein (0,06 mg/g ukupnih izoflavona); 3. sojin protein uz dodatak izoflavona do nivoa kao u prvoj grupi. Nazimice su dobijale: 1. sojinu sačmu (1,14 mg/g ukupnih izoflavona); 2. sojinu sačmu + dodatak izoflavona u koncentraciji dva puta većoj nego u sojinoj sačmi; 3. sojinu sačmu + dodatak izoflavona u koncentraciji pet puta većoj nego

u sojinoj sačmi. Autori su pratili dnevni prirast i konzumiranje hrane, površinu MLD-a, debljinu slanine, procenat mišića u trupu i tehnološke osobine mesa (pH_{24} , temperaturu mesa, boju, tvrdoću i druge). Posmatrajući čitav period tova, izoflavoni nisu uticali na dnevni prirast i dnevno konzumiranje hrane kod kastrata, ali posmatrano samo u završnoj fazi tova, prosečan dnevni prirast i konzumiranje hrane bili su značajno veći ($p<0,10$) kod životinja hranjenih koncentratom sojinog proteina. Dužina trupa, težina i procenat bezmasnog mesa, dnevni prirast bezmasnog mesa bili su povećani, a debljina slanine smanjena kod kastrata koji su dobijali dodatne izoflavone u ishrani. Međutim, između kastrata hranjenih sojinim brašnom, i kastrata hranjenih sojinim proteinom uz dodatak izoflavona nije bilo značajnih razlika. Tehnološke osobine mesa nisu se razlikovale ($p>0,10$) kod kastrata iz različitih eksperimentalnih grupa. Kod nazimica iz tri eksperimentalne grupe nije bilo razlika ni u jednoj od posmatranih osobina. Na osnovu rezultata, Payne i sar. (2001) zaključili su da izoflavoni smanjuju sadržaj masti i povećavaju količinu bezmasnog mesa kod kastrata u tovu, ali ne i kod nazimica, i da dodavanje izoflavona iznad količina koje se normalno nalaze u sojinom brašnu nema uticaja na poboljšavanje karakteristika trupa i kvaliteta mesa. Kuhn i sar. (2004) nisu uočili razlike u porastu i osobinama trupa kod kastrata hranjenih obrocima sa različitim količinama izoflavona. Liu i sar. (1999) utvrdili su povećanje mase na rođenju kod muške prasadi kao posledicu ishrane majki uz dodatak malih doza izoflavona.

Jiang i sar. (2007) ispitivali su uticaj dodavanja različitih doza izoflavona (0, 10, 20, 40, 80 mg/kg) kod brojlera muškog pola hranjenih istim osnovnim obrokom bez sojine sačme. Rezultati su pokazali da dodatak izoflavona od 10 i 20 mg/kg povećava prosečan dnevni prirast ali i konzumiranje hrane. Dodatak izoflavona 40mg/kg povećao je sposobnost zadržavanja vode kod mesa, i pH vrednost mesa. Na osnovu rezultata Jiang i sar. (2007) zaključili su da dodatak izoflavona u ishrani muških brojlera ima pozitivan uticaj na porast i kvalitet mesa.

Međutim, u eksperimentima sa kulturama mišićnih ćelija (*in vitro*), pokazalo se da izoflavoni inhibiraju rast i razvoj mišićnih ćelija. Jones i sar. (2005) utvrdili su da fitoestrogeni, a naročito genistein, pri koncentraciji $\geq 1 \mu\text{mol/l}$, inhibira proliferaciju mišićnih ćelija pacova u *in vitro* uslovima, mada ne utiče na degradaciju ili razgradnju

proteina. Slične rezultate dobili su i Ji i sar. (1999), koji su utvrdili da genistein veoma jako inhibira proliferaciju i fuziju mioblasta pacova, da je jačina inhibicije zavisna od doze genisteina, i da su efektivne doze već od $1 \mu\text{mol/l}$. Autori nisu zapazili negativne efekte genisteina na degradaciju proteina. Takođe, uočili su da je negativan efekat genisteina na fuziju mioblasta prisutan onda kada se genistein dodaje tokom prva 24 časa inicijacije formiranja miotubula. Ukoliko je genistein dodavan kasnije, nakon prvih 24 sata inicijacije, nije imao nikakve efekte na fuziju mioblasta. Posmatrajući sintezu miozina, autori su uočili takođe veoma štetno dejstvo genisteina, pri visokim dozama, i dugoj izloženosti. Pri niskim dozama ($1 \mu\text{mol/l}$), što odgovara koncentraciji u serumu ljudi i pacova kod kojih je zastupljena soja u ishrani, genistein je povećao obim sinteze miozina.

Mau i sar. (2008) proučavali su direktnе efekte genisteina i daidzeina na proliferativne kulture mišićnih ćelija poreklom od novorođene prasadi. Korišćene su doze izoflavona od 0,1, 1, 10 i $100 \mu\text{M}$, koje se inače mogu izmeriti u serumu nakon konzumiranja formula za ishranu odojčadi na bazi soje, ili biljnih hraniva koja se koriste u ishrani svinja. Rezultati ovog istraživanja pokazali su takođe zavisnost efekata od primenjenje doze izoflavona, i znatno jače inhibitorno dejstvo genisteina na proliferaciju mišićnih ćelija. Ovakvo dejstvo genistein je pokazao već pri dozi od $1 \mu\text{M}$. Sa druge strane, daidzein čak i pri znatno većim dozama - do $10 \mu\text{M}$, nije imao štetne efekte na rast mišićnih ćelija svinja.

Slično istraživanje, na kulturama mišićnih ćelija svinja sprovedeni su Rehfeldt i sar. (2009). Primjenjene su iste doze genisteina i daidzeina (0,1, 1, 10, 20 i $100 \mu\text{mol/l}$) i 17β -estradiol (0,1, 1 nmol/l) tokom poslednjih 26 časova kultivacije ćelija. Miogena diferencijacija nije bila promenjena pod dejstvom bilo koje od koncentracija izoflavona ili estradiola. Ovo je na prvi pogled u suprotnosti sa nalazima Ji i sar. (1999), ali ovi autori su utvrdili inhibitorno dejstvo genisteina na proliferaciju i fuziju mioblasta kada je on aplikovan u toku inicijacije. Zbog toga Rehfeldt i sar. (2009) zaključuju da inhibitorni efekat genisteina zavisi od stadijuma razvoja ćelijskih kultura, i da iz tog razloga, ukoliko se dodaje kasnije, genistein kao i daidzein i estradiol nemaju efekta na diferencijaciju. Međutim, ovi autori su potvrdili inhibitorno dejstvo genisteina u

zavisnosti od primjenjene doze, i odsustvo efekta daidzeina i 17β -estradiola na sintezu proteina. Utvrđeno je da niske doze genisteina, daidzeina i 17β -estradiola smanjuju degradaciju proteina u kulturama mišićnih ćelija, što bi potencijalno moglo doprineti povećanju akumulacije proteina u skeletnim mišićima svinja.

2.4 Uticaj strukture mišićnog tkiva na kvalitet mesa

Interakcija između mišićnih vlakana, njihovog energetskog metabolizma i različitih faktora okoline determiniše postmortalnu transformaciju mišića u meso. Histohemijske i biohemijijske osobine mišića, kao što su zastupljenost pojedinih tipova vlakana, veličina (prečnik) vlakana, oksidativni i glikolitički kapacitet, sadržaj glikogena i masti, utiču na kvalitet mesa (Karlsson i sar., 1999). Varijacije u kvalitetu mesa ogromne su kako između različitih vrsta životinja, tako i u okviru iste vrste, i posledica su zajedničkog delovanja genetske osnove jedinke, uslova okoline u kojima se životinja nalazi i pre- i post-mortem biohemijijskih procesa u samom mišićnom tkivu.

Kod svinja, karakteristike mesa koje su od najveće važnosti u pogledu kvaliteta su pH vrednost, boja i sposobnost zadržavanja vode, a ove osobine u velikoj meri zavise od strukture mišićnog tkiva, veličine - prečnika vlakana i njihove snabdevenosti krvlju - kapilarizacije (Henckel, 1995, Klont i sar., 1998).

Dva parametra kvaliteta mesa koja su najčešće u upotrebi za određivanje kvaliteta mesa su pH vrednost 45-60 min post-mortem (pH_1) i pH vrednost 24 sata nakon klanja (pH_{24}), zbog toga što mogu sa velikom preciznošću ukazati na tehnološki i konzumni kvalitet mesa (Van der Wal i sar., 1995). Meso dobrog kvaliteta ima pH_{24} vrednost 5,7-5,8. Poremećaji pH vrednosti povezani su sa tri moguća nepoželjna stanja mesa nakon klanja, a to su: svetlo, mekano, vodnjikavo (PSE – pale, soft, exudative) meso kod koga je pH_{24} vrednost oko 5,5; tamno, tvrdo, suvo (DFD – dark, firm, dry) meso kod koga je pH_{24} vrednost veća od 6,2; i kiselo (acid) meso kod koga je pH_{24} vrednost ispod 5,5. U

današnjim proizvodnim uslovima najčešće nepoželjno stanje mesa je PSE meso. Zbog svoje važnosti, pokazatelji pH vrednosti danas su standardno uključeni u odgajivačke programe.

Selekcija na veću količinu bezmasnog mesa i veću zastupljenost vlakana većeg prečnika, posebno tipa IIB, kod svinja rezultira u slabijoj kapilarizaciji a time nedovoljnoj ishranjenosti kiseonikom i hranljivim materijama, otežanoj eliminaciji CO₂ i laktata (Fiedler i sar., 1993, Henckel i sar., 1997), što za posledicu ima snižavanje pH vrednosti mesa nakon klanja, i smanjen kvalitet mesa. Kod modernih mesnatih rasa svinja, selekcijom se forsira dobijanje vlakana većeg prečnika, ali ovakva vlakna imaju tendenciju da se smanjuje broj mitohondrija u njihovom sastavu. Metabolizam ovakvih vlakana je glikolitički, ona spadaju u grupu brzo-okidajućih tzv. belih vlakana. Brojna istraživanja na svinjama pokazala su da se za povećan broj belih vlakana vezuju problemi PSE mesa (Larzul i sar., 1997, Fiedler i sar., 1999) i osjetljivosti na stres (Fiedler i sar., 1993, 1999). Brzo-okidajuća, bela vlakna proizvode energiju za kontrakciju uglavnom kroz glikolitički metabolizam, pa u uslovima kada su zahtevi za energijom visoki (neposredno pred klanje) ovakvim metabolizmom se stvara prevelika količina laktata koji se ne može eliminisati iz ćelija, denaturišu se proteini, i pH vrednost drastično pada. Prema Maltin i sar. (1997), izražena hipertrofija vlakana takođe utiče na smanjenje mekoće svinjskog mesa.

Ukoliko se posmatra veza između broja mišićnih vlakana, i mesnatosti i pH vrednosti mesa, utvrđeno je da postoji širok opseg optimalnog broja vlakana koji garantuje i dobru mesnatost i istovremeno dobar kvalitet mesa ukoliko su vlakna umerene veličine (Lengerken i sar., 1997). Ukoliko su bilo veličina, bilo broj vlakana na ekstremnim vrednostima, meso će imati veliki gubitak vode i nisku pH vrednost. Pri optimalnom balansu veličine i broja vlakana smanjuje se gubitak vode, podiže pH vrednost, povećava se mesnatost i kvalitet mesa.

Kako sumiraju Te Paas i sar. (2004), mekoća mesa pozitivno je korelirana sa veličinom vlakana, a prečnik vlakana povećava se od najmanjih – vlakana tipa I, preko vlakana tipa IIA, do vlakana tipa IIB koja su najvećeg prečnika (Tabela 11). Vlakna tipa IIB su

glikolitička vlakna, dakle njihova funkcija zavisi od glikogena koji se u ovim vlaknima nalazi u većoj količini. Glikogen daje mesu sladak ukus, pa je meso sa većim udelom vlakana tipa IIB mekše i ukusnije. Međutim, metabolizmom glikogena u ovim vlaknima dolazi do nakupljanja veće količine laktata koji snižava pH, a nizak pH uz visoku temperaturu denaturiše proteine, i meso gubi sposobnost zadržavanja vode. Visok sadržaj glikogena, odnosno veći udeo IIB vlakana predispozicija je za PSE meso. Sa druge strane, vlakna tipa I i IIA su oksidativna vlakna, bogata mioglobinom i mitohondrijama, pa daju mesu poželjnu crvenu boju. Ipak, jačina post-mortem kontrakcije odnosno skraćivanja najveća je u vlaknima tipa I, koja takođe imaju i mali sadržaj glikogena, pa će od mišićnog tkiva bogatog vlaknima tipa I nastati meso koje je tvrdo i bezukusno. Ono što mesu sa većim udelom vlakana tipa I i IIA daje pozitivne karakteristike jeste bolja kapilarizacija ovih vlakana, i sposobnost da se štetni produkti metabolizma (pre svega laktat) efikasnije izbacuju iz vlakana.

Tabela 11. Povezanost osobina mišićnih vlakana i osobina kvaliteta mesa (Te Paas i sar., 2004.)

Osobina mišićnih vlakana	Osobina kvaliteta mesa
Visok sadržaj glikogena	+ sladak ukus + tendencija ka PSE
Oksidativni kapacitet	+ pH ₂₄ + tendencija ka DFD
Kapilarizacija	+ kvalitet za konzum
Dužina sarkomere	+ mekoća mesa
Prečnik mišićnog vlakna	+ mekoća mesa
Sadržaj intramuskularne masti	+ ukus mesa za konzum

+ pozitivan uticaj pojedinih osobina mišićnih vlakana na osobine kvaliteta mesa

Još jedna odlika mišićnih vlakana usko vezana za kvalitet mesa je pojava tzv. gigantskih-džinovskih vlakana. Ovakva vlakna javljaju se na uzorcima mišića svinja uzetih post-mortem, ali ne i na uzorcima sa biopsije (Handel i Stickland, 1986). Najčešće su gigantska vlakna ovalnog ili kružnog preseka, izrazito velikog prečnika, i smeštena po obodu mišićnog fascikula. Smatra se da nastaju hiper-kontrakcijom mišićnih vlakana koja nisu sposobna da prođu kroz normalnu relaksaciju nakon inicijalnog *rigor mortis*. U mišićima kod kojih nema problema sa kvalitetom mesa, učestalost pojave gigantskih vlakana je manja od 0,5%. Veća procentualna zastupljenost ovih vlakana rezultira u lošijem kvalitetu mesa dobijenog od *m. longissimus dorsi* kod Pijetren svinja (Fiedler i sar., 1999).

Kao zaključak može se reći da ekstremna hipertrofija mišićnih vlakana, bilo pri suviše niskom ili suviše visokom broju vlakana, uz pojavu gigantskih vlakana predstavljaju jake indikatore mesa lošeg kvaliteta. To znači da bi optimalan balans između broja vlakana i njihove postnatalne hipertrofije mogao biti ključni zahtev u selekciji na povećanu količinu bezmasnog mesa i dobar kvalitet mesa.

3. Ciljevi i zadaci istraživanja

Fitoestrogeni daidzein i genistein su normalno prisutni u biljci soje, koja ulazi u sastav koncentrovanih smeša za ishranu svinja. Ove supstance u organizmu se ponašaju slično polnom hormonu estrogenu, i deluju na različite organe i tkiva. Cilj ovog rada bio je da se utvrdi uticaj dodavanja daidzeina u hranu suprasnih krmača na proizvodne osobine i osobine mišićnog tkiva potomstva, kao i uticaji veličine legla kod prasadi i tovljenika, i pola kod tovljenika na pomenute osobine. Radi ostvarivanja postavljenih ciljeva definisani su sledeći istraživački zadaci:

1. Ispitati uticaj dodavanja daidzeina u kasnoj fazi gestacije u dva različita obroka za ishranu suprasnih krmača. Prvi obrok koncipirati tako da uz dodatak sintetičkog daidzeina, u obroku bude prisutna i soja kao prirodni izvor daidzeina, i to u količini standardnoj za ishranu svinja. U drugom obroku soju potpuno izbaciti iz obroka i dodavati samo sintetički daidzein. Kod potomstva kontrolnih i tretiranih krmača, radi utvrđivanja uticaja daidzeina pratiti sledeće osobine: proizvodne osobine krmača, morfološke i histološke osobine *m. semitendinosus*-a prasadi, morfološke i histološke osobine *m. semitendinosus*-a tovljenika. Takođe ispitati eventualni uticaj daidzeina u zavisnosti od veličine legla kod novorođene prasadi i tovljenika, odnosno pola kod tovljenika.
2. Ispitati uticaj veličine legla kao faktora, formiranjem dve grupe legala prema broju prasadi: malog i velikog. U okviru oba legla pratiti: proizvodne osobine krmača, morfološke i histološke osobine *m. semitendinosus*-a prasadi, morfološke i histološke osobine *m. semitendinosus*-a tovljenika. Takođe utvrditi moguć uticaj interakcije tretmana krmača daidzeinom i veličine legla na navedene osobine.
3. Ispitati uticaj pola kao faktora na proizvodne osobine, morfološke i histološke osobine mišićnog tkiva tovljenika, i moguće različite efekte suplementacije daidzeina krmačama kod potomaka različitog pola na kraju tova.

4. Materijal i metod rada

Istraživanje je obavljeno na oglednom dobru Instituta za Biologiju domaćih životinja u Roštoku, u Nemačkoj (Leibnitz Institute for Farm Animal Biology - FBN, Dummerstorf – Rostock), pri odeljenju za Biologiju i porast mišića (Research Unit Muscle Biology and Growth). Za ispitivanje su korišćene životinje rase Nemački landras, a sve procedure držanja i korišćenja životinja bile su u saglasnosti sa Pravilnikom Komiteta za zaštitu životinja, Ministarstva Poljoprivrede i Zaštite životne sredine Nemačke.

Istraživanje je sprovedeno u okviru dva zasebna eksperimenta.

4.1 Životinje i ishrana

4.1.1 Eksperiment 1

Šesnaest multiparih krmača osemenjeno je semenom jednog nerasta rase Nemački landras u dva uzastopna ponavljanja sa po osam krmača u svakom ponavljanju. Suprasnost je potvrđena 28-og dana gestacije ultrazvučnim aparatom. Krmače su bile prosečne početne telesne mase 180 ± 7 kg, i broja prašenja $3,0\pm0,3$. Nakon utvrđivanja suprasnosti krmače su podeljene na eksperimentalnu ($n=8$) i kontrolnu grupu ($n=8$), pri čemu su životinje iz obe grupe bile ujednačene po telesnoj masi, debljini leđne slanine i broju prašenja.

Krmače su bile smeštene u individualne boksove, pod kontrolisanim uslovima okoline (temperatura 19°C , relativna vlažnost vazduha 60-80%). Sve ogledne životinje imale su slobodan pristup vodi, i hranjene su ručno dva puta dnevno koncentrovanom smešom za ishranu suprasnih krmača (Denkavit, Trede&Pein GMBH&Co. KG, Itzehohe, Germany). Do 104-og dana suprasnosti životinje su dobijale koncentrovanu smešu (smeša Denka 1) sa 14,5% sirovih proteina (SP) i 11,8 MJ metaboličke energije (ME), a

od 105-115-og dana suprasnosti smešu sa 17,8% SP i 13 MJ ME (smeša Denka 2). U smešu je bila uključena sojina sačma. U skladu sa povećanjem potreba životinja tokom suprasnosti, količina koncentrovane smeše povećavana je postepeno od 2,6 kg dnevno po grlu na početku do 5,0 kg dnevno na kraju suprasnosti. Kompletan sastav smeša za ishranu suprasnih krmača u Eksperimentu 1 dat je u Tabeli 12.

Od 85-og dana gestacije eksperimentalnoj grupi krmača je u smešu dodavan daidzein (donacija Poljoprivrednog Univerziteta iz Nanjinga, Kina) u količini 8 mg/kg hraniva. Prema Kuhn i sar. (2004) količina daidzeina u sojinoj sačmi koja se standardno uključuje u obrok je 407 µg/g sačme, odnosno u obroku koji sadrži 15% sojine sačme prisutno je oko 61 mg daidzeina po kilogramu hraniva. Uz dodatak daidzeina u količini 8 mg/kg hraniva, a s obzirom na povećanje količine smeše davane svakoj krmači, i povećanje procenta sojine sačme u obroku, to daje ukupnu dnevnu količinu daidzeina od oko 280 do 450 mg u periodu od 85-od dana gestacije do kraja suprasnosti kod tretiranih krmača. Tokom trajanja eksperimenta dve krmače iz kontrolne grupe isključene su iz ogleda zbog pojave koštanog oboljenja, odnosno preranog prašenja.

Radi indukcije prašenja, krmačama iz obe grupe je 114-og dana suprasnosti intramuskularno aplicirana injekcija 1 ml sintetičkog prostaglandin analoga (cloprostenol, 75 mg/ml: AniMedica West, Chemische Produkte GmbH, Senden, Germany).

Nakon prašenja evidentirana je telesna masa sve prasadi i veličina legla svake krmače. Iz svakog legla uzeta su po dva muška praseta mase približne prosečnoj masi prasadi u leglu i radi uzorkovanja mišićnog tkiva žrtvovana nakon anesteziranja sa 1 ml mešavine ursotamina (Ursotamin, Serumwerk Bernburg AG, Germany) i kombelena (Combelen, Bayer AG, Leverkusen, Germany) u odnosu 1:1.

Preostala muška prasad kastrirana su 5 dana nakon prašenja, a sva prasad ostala su sa krmačama sve do zalučenja sa 28 dana starosti, nakon čega su stavljena u tov. Ishrana prasadi tokom čitavog perioda odgajivanja i tova bila je *ad libitum*. Ishrana prasadi koncentrovanom smešom započeta je 10 dana nakon prašenja, starter smešom koja je

sadržala 14 MJ ME, 19% sirovih proteina i 1,3% lizina. Sastav početne smeše (Kern 1, Trede&Pein, GMBH&Co. KG, Itzehohe, Germany) za ishranu prasadi dat je u Tabeli 12. U periodu odgajivanja, od 42-og do 70-og dana, za ishranu je korišćena grover smeša sa 13,8 MJ ME, 18,9% sirovih proteina i 1,21% lizina. Sastav grover smeše (Kern 2) dat je u Tabeli 12. Tokom faze tova, od 71-og do 180-og dana tovljenici su bili smešteni u grupama i individualno hranjeni uz pomoć elektronskog čipa (INSENTEC, Marknesse, The Netherlands). Smeša korišćena u fazi tova bila je komercijalna finišer smeša (Mast MM) sa 13 MJ ME, 17% sirovih proteina i 0,94% lizina. Sastav finišer smeše dat je u Tabeli 12.

Tabela 12. Sastav koncentrovanih smeša (u %, osim gde je drugačije naznačeno) korišćenih za ishranu krmača i prasadi u Eksperimentu 1 i Eksperimentu 2.

Sastav koncentrovane smeše	Kern 1 ¹	Kern 2 ²	Mast MM ³	Denka 1 ⁴	Denka 2 ⁵
Pšenica	15,00	44,00	26,00	18,00	18,00
Termički obraden kukuruz	30,00	15,00	/	/	/
Ječam	11,00	9,00	28,00	31,00	34,00
Tritikale	/	/	15,00	7,00	11,00
Stočni grašak	/	/	6,00	/	/
Ovas	/	/	/	/	4,00
Pšenične mekinje	/	/	/	14,00	2,00
Ovsene mekinje	/	/	/	2,00	/
Suvi rezanac šećerne repe	/	/	/	7,00	/
Sojina sačma	16,00	17,00	15,00	15,00	20,00
Sačma uljane repice	/	/	4,00	/	/
Riblje brašno	5,00	5,00	/	/	2,00
Pivski kvasac	/	/	/	/	2,00
Glukoza	1,00	1,00	/	/	/
Melasa	/	1,00	2,00	2,50	2,00
Biljno ulje	2,00	1,50	1,50	1,00	2,00
Denka Ferkel 50	/	5,00	/	/	/
Kern 200 AD Rietz	20,00	/	/	/	/
Mineralno-vitaminski premiks	/	1,50	2,50	2,50	3,00
Energija (MJ ME)	14,00	13,80	13,00	12,60	13,00
Sirovi protein	19,00	18,90	17,00	17,60	17,80
Lizin	1,30	1,21	0,94	0,95	0,95
Sirova mast	5,60	4,20	3,90	4,20	4,20
Sirova vlakna	3,00	3,20	4,50	5,00	4,50
Ca	0,80	0,80	0,75	0,90	0,90
P	0,66	0,67	0,50	0,70	0,70
Vitamin A (IU)	16000	16000	10000	16000	20000
Vitamin D ₃ (IU)	2000	2000	1000	1600	2000
Vitamin E (mg)	170	75	50	45	80
Antibiotik, avilamycin (promoter rasta) (mg)	40	/	/	/	/
Kompleks kiselina	kompleks org. kiselina	kompleks org. kiselina	propionska kiselina	propionska kiselina	propionska kiselina
Fitaza (FTU)	500	500	/	/	/

¹ starter smeša za ishranu prasadi u periodu 10-42 dana starosti

² grover smeša za ishranu životinja u tovu u periodu 43-70 dana starosti

³ finišer smeša za ishranu životinja u tovu u periodu 71-180 dana starosti

⁴ kompletna smeša za ishranu suprasnih krmača od 1-104 dana suprasnosti

⁵ kompletna smeša za ishranu suprasnih krmača od 105-114 dana suprasnosti

Sve životinje koje su ušle u tov merene su jednom nedeljno do odlučenja sa 28 dana starosti, a zatim na svake tri nedelje do 175-og dana starosti i potom na klanju.

4.1.2 Eksperiment 2

Šesnaest multiparih krmača osemenjeno je semenom jednog nerasta rase Nemački landras u dva uzastopna ponavljanja sa po osam krmača u svakom ponavljanju. Suprasnost je potvrđena 28-og dana gestacije ultrazvučnim aparatom. Nakon utvrđivanja suprasnosti krmače su podeljene na eksperimentalnu (n=8) i kontrolnu grupu (n=8), pri čemu su životinje iz obe grupe bile ujednačene po telesnoj masi (prosečno $235,8 \pm 12,7\text{kg}$) i broju prašenja (prosečno $4,1 \pm 0,7$).

Krmače su bile smeštene u individualne boksove, pod kontrolisanim uslovima okoline (temperatura 19°C , relativna vlažnost vazduha 60-80%). Sve ogledne životinje imale su slobodan pristup vodi, i hranjene su ručno dva puta dnevno specijalnim koncentrovanom smešom koja se bazirala na pšenici i tritikaleu, a nije sadržala soju (Rez. 164.0, Trede&Pein GMBH&Co. KG, Itzehohe, Germany). Tokom čitavog trajanja suprasnosti životinje su dobijale koncentrovanu smešu (smeša Rez. 164.0.) sa 16% sirovih proteina, 13,0 MJ ME. U skladu sa povećanjem potreba životinja tokom suprasnosti, količina smeše povećavana je postepeno od 2,6 kg dnevno po grlu na početku do 5,0 kg dnevno na kraju suprasnosti. Kompletan sastav koncentrovane smeše za ishranu suprasnih krmača u Eksperimentu 2 dat je u Tabeli 13.

Od 85-og dana gestacije eksperimentalnoj grupi je u smešu dodavan čist, sintetički daidzein u količini 1 mg po kg telesne mase dnevno. Obzirom na prosečnu telesnu masu krmača u eksperimentu 2, ukupna količina daidzeina davana krmačama bila je oko 180-260 mg dnevno. Tokom trajanja eksperimenta jedna krmača iz eksperimentalne grupe isključena je iz ogleda zbog utvrđene lažne suprasnosti.

Radi indukcije prašenja, krmačama iz obe grupe je 114-og dana suprasnosti intramuskularno aplicirana injekcija 1 ml sintetičkog prostaglandin analoga (cloprostenol, 75 mg/ml, AniMedica West, Chemische Produkte GmbH, Senden, Germany).

Nakon prašenja evidentirana je telesna masa sve prasadi i veličina legla svake krmače. I u eksperimentu 2 odmah po prašenju iz svakog legla uzeta su po dva muška praseta telesne mase najpričližnije prosečnoj masi prasadi u leglu. Prasad je žrtvovana intramuskularnom aplikacijom 1,25 mg propionilpromazina (0,2 ml Combelen, Bayer AG, Leverkusen, Germany) i 50 mg ketamina (0,5 ml Ursotamin, Serumwerk Bernburg AG, Germany), radi uzimanja uzoraka misića *m. semitendinosus* za detaljne histološke analize.

Tabela 13. Sastav koncentrovane smeše (u %, osim gde je drugačije naznačeno) za ishranu suprasnih krmača u Eksperimentu 2

Sastav smeše	Rez. 164.0. ¹
Pšenica	22,00
Tritikale	25,00
Raž	14,00
Sačma uljane repice	11,00
Ječam	10,60
Stočni grašak	10,00
Pšenične mekinje	4,00
Kalcijum karbonat	1,40
Sojino ulje	0,70
L-lizin	0,38
So	0,37
Monokalcijum-fosfat	0,30
Aditiv	0,20
DL-metionin	0,05
Energija (MJ ME)	13,0
Sirovi protein	16,00
Lizin	0,94
Sirova mast	3,00
Sirova vlakna	4,80
Ca	0,75
P	0,50
Na	0,18
Vitamin A (IU)	10000
Vitamin D ₃ (IU)	1000
Vitamin E (mg)	50
Cu (mg)	25
Kompleks kiselina	propionska kiselina

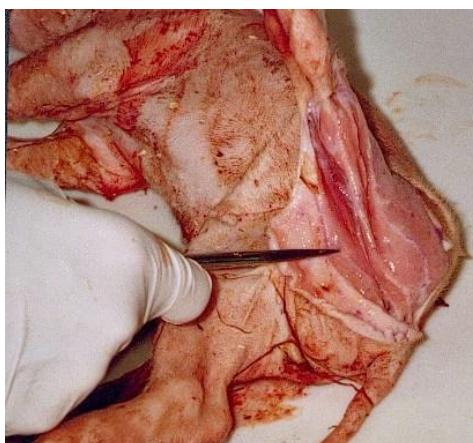
¹ kompletna smeša za ishranu surpasnih krmača od 1-114 dana suprasnosti

Preostala muška prasad kastrirana su 5 dana nakon prašenja, a sva prasad ostala su sa krmačama sve do zalučenja sa 28 dana starosti, nakon čega su stavljena u tov. Ishrana prasadi tokom čitavog perioda odgajivanja i tova bila je *ad libitum*. Ishrana prasadi koncentrovanom smešom započeta je 10 dana nakon prašenja, starter smešom koja je sadržala 14 MJ ME, 19% sirovih proteina i 1,3% lizina. Sastav početne smeše (Kern 1, Trede&Pein, GMBH&Co. KG, Itzehohe, Germany) za ishranu prasadi dat je u Tabeli 12. U periodu odgajivanja, od 42-og do 70-og dana, za ishranu je korišćena grover smeša sa 13,8 MJ ME, 18,9% sirovih proteina i 1,21% lizina. Sastav grover smeše (Kern 2) dat je u Tabeli 12. Tokom faze tova, od 71-og do 180-og dana tovljenici su bili smešteni u grupama i individualno hranjeni uz pomoć elektronskog čipa (INSENTEC, Marknesse, The Netherlands). Smeša korišćena u fazi tova bila je komercijalna finišer smeša (Mast MM) sa 13 MJ ME, 17% sirovih proteina i 0,94% lizina. Sastav finišer smeše dat je u Tabeli 12.

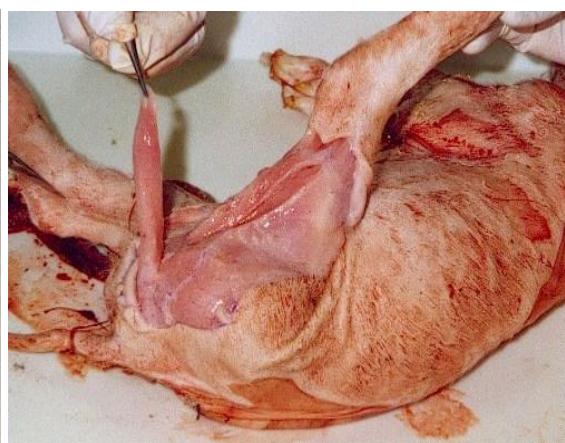
4.2 Histološke i histohemijeske analize mišićnog tkiva

Za histološke i histohemijeske analize disekciran je *m. semitendinosus* desne noge kod prasadi, a kod tovljenika isti mišić sa leve noge.

Kod novorođene prasadi mereni su težina i dužina mišića, kao i obim mišića na središnjem – najširem delu. Površina poprečnog preseka mišića (muscle cross sectional area – MCSA) preračunata je preko obima mišića. Komadi tkiva isecani iz središnjeg dela mišića lepljeni su na postolja od plute, i momentalno zamrzavani u izopentanu porinutom u tečni azot. Fotografije postupka diseciranja i merenja mišića kod prasadi prikazane su na Slikama 15, 16, 17 i 18.



Slika 15. Položaj mišića *m. semitendinosus*



Slika 16. Seciranje mišića



Slika 17. Merenje dužine i obima mišića



Slika 18. Priprema uzorka za zamrzavanje

U kriostatu (Reichert-Jung, Leica, Nussloch, Germany) na temperaturi -20°C na zamrznutom uzorku mišića sečena je serija poprečnih preseka debljine 10 ili 16 µm, zavisno od daljih analiza. Rezovi mišićnog tkiva debljine 10 µm bojeni su eozinom (Romeis, 1989), a rezovi debljine 16 µm bojeni su na miozin ATPazu nakon kisele preinkubacije na pH 4,2 (Guth i Samaha, 1970).

Za razliku od prasadi, kod tovljenika je iz svakog mišića uzimano po dva uzorka: jedan uzorak mišićnog tkiva iz tamnog (duboka partija) i jedan uzorak iz svetlog dela mišića (površinska partija) na središnjem – najširem delu mišića. Ovakav postupak standardno se primenjuje kod analiziranja *m. semitendinosus*-a zbog toga što se raspored različitih tipova vlakana razlikuje u ova dva dela mišića: u dubokim partijama mišića znatno više su prisutna tamna, spora, oksidativna vlakna (STO), dok su u površinskim partijama mišića mnogobrojnija svetla, brza, glikolitička vlakna (FTG). Zbog toga se za dalje analize uzimaju vrednosti pojedinih parametara, izračunate kao prosečne vrednosti

karakteristika iz obe regije mišića. Uzorci mišića su lepljeni na postolja od plute, i momentalno zamrzavani u izopentanu porinutom u tečni azot. Rezovi tkiva debljine 10 µm sečeni su u kriostatu na temperaturi -20°C. Za bojenje citoplazme i jedara primenjeno je bojenje hematoksilin-eozinom (Romeis, 1989), a klasifikacija vlakana na sporo-okidajuća oksidativna (STO), brzo-okidajuća oksidativna (FTO) i brzo-okidajuća glikolitička (FTG) omogućena je kombinovanim bojenjem na NADH-tetrazolium reduktazu NADH-TR (Novikoff i sar., 1961) i kiselo preinkubiranu ATP-azu na pH 4,2 (Guth i Samaha, 1970).

Za utvrđivanje ukupnog broja vlakana na poprečnom preseku mišića kod novorođene prasadi korišćeni su preparati tkiva bojeni eozinom, a mikroskop podešavan na uvećanje 250 (objektiv 20; okular 12,5). Slučajno odabrana mikroskopska slika tj. vidno polje projektovana je na papir tačno određene površine (format A5). Za svaki preparat tkiva brojana su vlakna na pedeset A5 papira korišćenjem olovke-brojača. Izračunato je da, pri uvećanju mikroskopa 250, površina jednog papira A5 formata čini $0,19734 \text{ mm}^2$ sa preparata mišića, time 50 papira A5 formata iznosi $9,867 \text{ mm}^2$ sa preparata mišića, što čini 8-12% ukupne površine poprečnog preseka mišića. Ukupan broj vlakana preračunat je na osnovu površine poprečnog preseka mišića i broja vlakana prebrojanom na površini od pedeset papira A5 formata.

Za preračunavanje broja primarnih vlakana korišćeni su preparati tkiva bojeni na ATP-azu. S obzirom da se smatra da kod mišića prasadi centralno postavljeno tamno obojeno (tip I) vlakno u klasteru nastaje diferencijacijom primarnog vlakna, to se broj primarnih vlakana dobija brojanjem centralnih tamno obojenih vlakana najvećeg prečnika u klasteru, ili brojanjem celih klastera. Broj sekundarnih vlakana preračunava se oduzimanjem broja primarnih od ukupnog broja vlakana. Za brojanje primarnih vlakana mikroskop je podešavan na uvećanje 125 (objektiv 10; okular 12,5), slučajno odabранo vidno polje projektovano je takođe na papir A5 formata, ali je proces ponavljan na deset papira A5 formata, odnosno na ukupnoj površini $7,8407 \text{ mm}^2$.

Parametri koji su bili podvrgnuti daljoj statističkoj analizi radi utvrđivanja efekta dodavanja daidzeina suprasnim krmačama od 85-od dana gestacije su:

1. Proizvodne osobine:

- masa na rođenju (kg)

2. Morfološke osobine *m. semitendinosus*:

- težina mišića (g)
- dužina mišića (cm)
- obim mišića (cm)
- površina poprečnog preseka mišića (cm^2)

3. Histološke osobine *m. semitendinosus*:

- ukupan broj vlakana na poprečnom preseku
- broj primarnih vlakana na poprečnom preseku
- broj sekundarnih vlakana na poprečnom preseku
- procenat primarnih vlakana (%)
- odnos sekundarna : primarna vlakna

Preparati mišićnog tkiva tovljenika posmatrani su pod uvećanjem objektiva mikroskopa 10, i preko kamere povezane sa računaru sliku obrađivana uz pomoć programskog softvera AMBA (IBSB, Berlin, Germany). Najpre je na preparatima bojenim hematoksilin-eozinom utvrđivan broj jedara, broj vlakana i površina pojedinačnih vlakana, a zatim preparat mišića iste životinje bojen kombinovanom reakcijom na NADH-tetrazolium reduktazu i kiselo-preinkubiranu ATP-azu pri pH 4,2 korišćen za utvrđivanje tipa vlakana. Naime, prilikom obrade preparata bojenog hematoksilin-eozinom, površina pojedinačnih vlakana određuje se na osnovu obima. Preparati se obrađuju u računarskom programu AMBA, tako što se svako pojedinačno vlakno opisuje po svojoj ivici. Program dobija informaciju o obimu vlakna, i na osnovu ovog podatka preračunava površinu vlakna. Kada se sva vlakna sa preparata opisuju, dobija se izgled mreže ili saća. Ovakva slika služi kao „šablon“ za dalju obradu preparata na kome se posmatraju tipovi vlakana. Šablon ostaje zapamćen u programu, i vidljiv na monitoru kada se za mikroskopiranje postavi preparat bojen kombinovanom reakcijom na NADH-tetrazolium reduktazu i kiselo-preinkubiranu ATP-azu pri pH 4,2. Pod mikroskopom se traži isti deo preparata koji je prethodno bio

posmatran na hematoksilin-eozin preparatu, dakle potrebno je da se šablon vidljiv na monitoru poklopi sa rasporedom vlakana na NADH-TR preparatu. Dalji postupak svodi se na označavanje tipova vlakana zavisno od njihove boje, a za svako označeno vlakno program ima podatak o obimu tj. površini. Na ovaj način omogućeno je precizno merenje površine svakog tipa vlakna pojedinačno. Za svakog tovljenika mereno je oko 400-500 vlakana, 50% u tamnom (dubokom), i 50% u svetlom (površinskom) regionu mišića.

Parametri koji su bili podvrgnuti daljoj statističkoj analizi radi utvrđivanja efekta dodavanja daidzeina suprasnim krmačama od 85-og dana gestacije, na osobine mišića tovljenika su:

1. Proizvodne osobine:

- masa na rođenju (kg)
- klanična masa (kg)

2. Morfološke osobine *m. semitendinosus*:

- težina mišića (g)
- dužina mišića (cm)
- obim mišića (cm)
- površina poprečnog preseka mišića (cm^2)

3. Histološke osobine *m. semitendinosus*:

- ukupan broj vlakana na poprečnom preseku
- prosečna površina STO vlakna (μm^2)
- prosečna površina FTO vlakna (μm^2)
- prosečna površina FTG vlakna (μm^2)
- prosečna površina mišićnog vlakna (bez obzira na tip) (μm^2)
- procenat STO vlakana u ukupnom broju vlakana na poprečnom preseku (%)
- procenat FTO vlakana u ukupnom broju vlakana na poprečnom preseku (%)
- procenat FTG vlakana u ukupnom broju vlakana na poprečnom preseku (%)
- broj jedara po jednom STO vlaknu

- broj jedara po jednom FTO vlaknu
- broj jedara po jednom FTG vlaknu
- prosečan broj jedara po jednom vlaknu (bez obzira na tip)
- površina STO vlakna po jednom jedru (μm^2)
- površina FTO vlakna po jednom jedru (μm^2)
- površina FTG vlakna po jednom jedru (μm^2)
- prosečna površina vlakna (bez obzira na tip) po jednom jedru (μm^2)
- broj vlakana na 1cm^2 površine mišića

4.3 Statistička obrada podataka

Podaci su podvrgnuti analizi varijanse korišćenjem GLM i mešovitog modela klasifikacije SAS (SAS System for Windows Release 8e, SAS Institute Inc., Cary, NC 27513, USA). Podaci prikazani u tabelama su least squares means (LSM) \pm standardna greska (SE). Podaci za osobine krmača analizirani su GLM metodom sa tretmanom (daidzein, kontrola), ponavljanjem, veličinom legla i njihovim interakcijama kao fiksnim faktorima. Podaci za osobine potomstva analizirani su mešovitim modelom analize varijanse gde su tretman, veličina legla, pol, ponavljanje i odgovarajuće interakcije uzete za fiksne faktore, a krmača kao slučajan faktor. U Eksperimentu 1 faktor veličine legla definisan je kao L1 za legla manja od 14, i L2 za legla veća ili jednak 14 prasadi, obzirom da je 14 bila izračunata medijana za ovu osobinu, dok je u Eksperimentu 2 izračunata medijana iznosila 15, tako da je pod malim leglom (L1) podrazumevano leglo sa manje od 15 prasadi, a pod velikim leglom (L2) leglo sa 15 ili više prasadi. Značajnost razlika testirana je Studentovim t-testom ($p<0,05$).

Kod prasadi analiza je izvedena prema sledećoj formuli:

$$y_{ijklm} = \mu + Tr_i + P_j + VL_k + K_{l(ik)} + TrP_{ij} + TrVL_{ik} + e_{ijklm}$$

gde je:

y_{ijklm} – posmatrana osobina

μ - ukupni prosek

Tr_i – efekat i-tog nivoa tretmana ($i = 0, 1$)

P_j – efekat j-tog nivoa ponavljanja ($j = 1, 2$)

VL_k – efekat k-tog nivoa veličine legla ($k = 1, 2$)

$K_{l(ik)}$ – slučajni efekat l-te krmače u okviru i x k-tog nivoa tretmana x veličine legla ($l = k, \dots, g_i$)

TrS_{ij} – efekat interakcije tretman x ponavljanje

$TrVL_{ik}$ – efekat interakcije tretman x veličina legla

e_{ijklm} – slučajni rezidualni efekat

Kod tovljenika analiza je izvedena prema sledećoj formuli:

$$y_{ijklm} = \mu + Tr_i + S_j + VL_k + K_{l(ik)} + TrS_{ij} + TrVL_{ik} + e_{ijklm}$$

gde je:

y_{ijklm} – posmatrana osobina

μ - ukupni prosek

Tr_i – efekat i-tog nivoa tretmana ($i = 0, 1$)

S_j – efekat j-tog nivoa pola ($j = 1, 2$)

VL_k – efekat k-tog nivoa veličine legla ($k = 1, 2$)

$K_{l(ik)}$ – slučajni efekat l-te krmače u okviru i x k-tog nivoa tretmana x veličine legla ($l = k, \dots, g_i$)

TrS_{ij} – efekat interakcije tretman x pol

$TrVL_{ik}$ – efekat interakcije tretman x veličina legla

e_{ijklm} – slučajni rezidualni efekat

Broj observacija (n) za sve osobine kod prasadi iznosio je 12 u kontroli i 16 u tretmanu u okviru Eksperimenta 1, odnosno 15-16 u kontroli i 13-14 u tretmanu u okviru

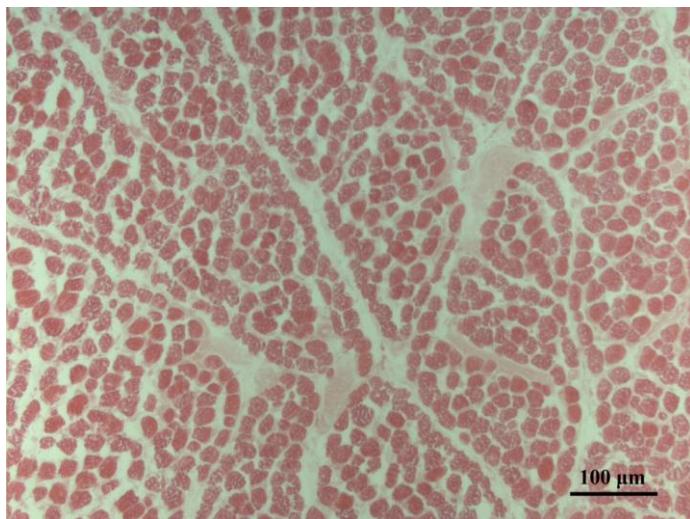
Eksperimenta 2. Kod tovljenika, broj observacija (n) za masu na rođenju bio je 88 u kontroli i 84 u tretmanu u okviru Eksperimenta 1, i 98 u kontroli i 83 u tretmanu u okviru Eksperimenta 2. Klanična masa utvrđivana je na 30 tovljenika u kontroli i 32 tovljenika u tretmanu u Eksperimentu 1, odnosno 66 tovljenika u kontroli i 52 tovljenika u tretmanu u Eksperimentu 2. Morfološke osobine m. semitendinosus merene su na 16 (kontrola) i 15 tovljenika (tretman) u Eksperimentu 1, odnosno 66 (kontrola) i 52 tovljenika (tretman) u Eksperimentu 2. Histološke osobine mišića utvrđivane su na 15 tovljenika u kontrolnoj i 14 tovljenika u oglednoj grupi Eksperimenta 1, odnosno 25-29 tovljenika (kontrola) i 22-23 tovljenika (tretman) u okviru Eksperimenta 2.

5. Rezultati

5.1 Histološke i histohemijske analize mišićnog tkiva

Različitim histološkim i histoenzimološkim tipovima bojenja uzoraka mišićnog tkiva dobijaju se histološki preparati na kojima se mogu utvrđivati različite osobine ovog tkiva. Kod prasadi i tovljenika u Eksperimentima 1 i 2 ovog istraživanja korišćeno je nekoliko tipova bojenja.

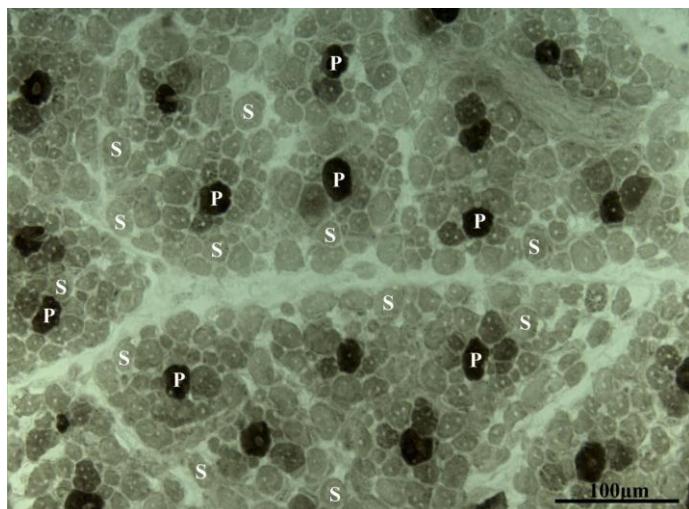
Kod prasadi se za utvrđivanje ukupnog broja vlakana koristilo bojenje eozinom. Rezovi mišićnog tkiva isečeni u kriostatu na debljinu $10 \mu\text{m}$ bojeni su eozinom prema Romeis (1989). Izgled preparata nakon ove vrste bojenja prikazan je na slici 19. Može se uočiti pravilna raspoređenost mišićnih ćelija, kao i njihova ravnomerna obojenost, bez obzira na veličinu ili tip.



Slika 19. Izgled preparata mišićnog tkiva neonatalne prasadi, bojenje eozinom, uvećanje objektiva 10×

Za preračunavanje broja primarnih i sekundarnih vlakana kod prasadi korišćeni su preparati tkiva sečeni u kriostatu na debljinu $16 \mu\text{m}$ i bojeni na miozin ATPazu nakon kisele preinkubacije na pH 4,2 (Guth i Samaha, 1970). Izgled preparata mišićnog tkiva dobijenog nakon ove vrste bojenja prikazan je na slici 20, gde se uočavaju razlike u obojenosti vlakana. Tamno obojena, centralno postavljena vlakna najvećeg prečnika u

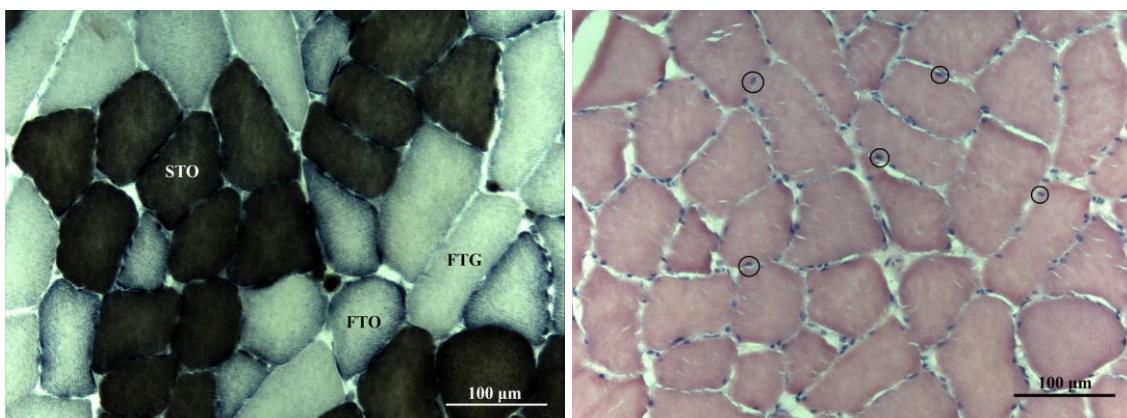
klasteru su primarna vlakna (P), a vlakna koja nakon bojenja ostaju svetle boje su sekundarna vlakna (S) (slika 20.). Broj primarnih vlakana se dobija brojanjem tamno obojenih vlakana u klasteru, ili brojanjem celih klastera. Broj sekundarnih vlakana preračunava se oduzimanjem broja primarnih od ukupnog broja vlakana.



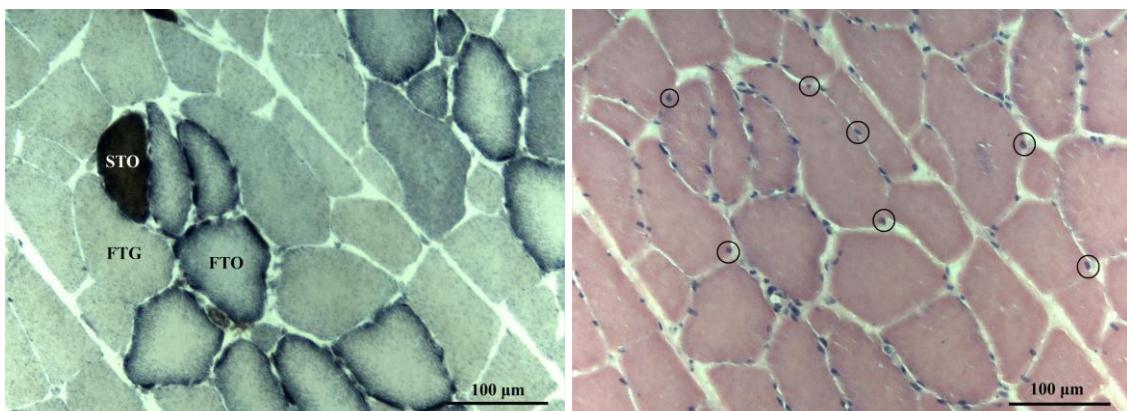
Slika 20. Izgled preparata mišićnog tkiva neonatalne prasadi, bojenje na miozin ATP-azu nakon kisele preinkubacije na pH 4,2, uvećanje objektiva 20× (P – primarna vlakna, S – sekundarna vlakna)

Za razliku od prasadi, kod tovljenika je iz svakog mišića uzimano po dva uzorka: jedan uzorak mišićnog tkiva iz tamnog (duboka partija) i jedan uzorak iz svetlog dela mišića (površinska partija) na središnjem – najširem delu mišića. Rezovi tkiva debljine 10 μm sečeni su u kriostatu na temperaturi -20°C. Za bojenje citoplazme i jedara primenjeno je bojenje hematoksilin-eozinom (Romeis, 1989), i na ovako pripremljenim preparatima utvrđivan je ukupan broj vlakana, površina pojedinačnih vlakana i broj jedara. Izgled preparata mišićnog tkiva tovljenika bojen hematoksilin-eozinom prikazan je na slikama 21a (desno), 21b (desno), 22a (desno) i 22b (desno), gde je na svakoj slici uokvireno po nekoliko jedara mišićnih ćelija. Može se uočiti da su sva vlakna na preparatu jednako obojena, i da se tamno obojena jedra nalaze raspoređena po obodu svakog vlakna. Klasifikacija vlakana na sporo-okidajuća oksidativna (STO), brzo-okidajuća oksidativna (FTO) i brzo-okidajuća glikolitička (FTG) omogućena je kombinovanim bojenjem na NADH-tetrazolium reduktazu NADH-TR (Novikoff i sar., 1961) i kiselo preinkubiranu ATP-azu na pH 4,2 (Guth i Samaha, 1970). Izgled mišićnog tkiva tovljenika nakon ove vrste bojenja prikazan je na slikama 21a (levo), 21b (levo), 22a (levo) i 22b (levo). Na

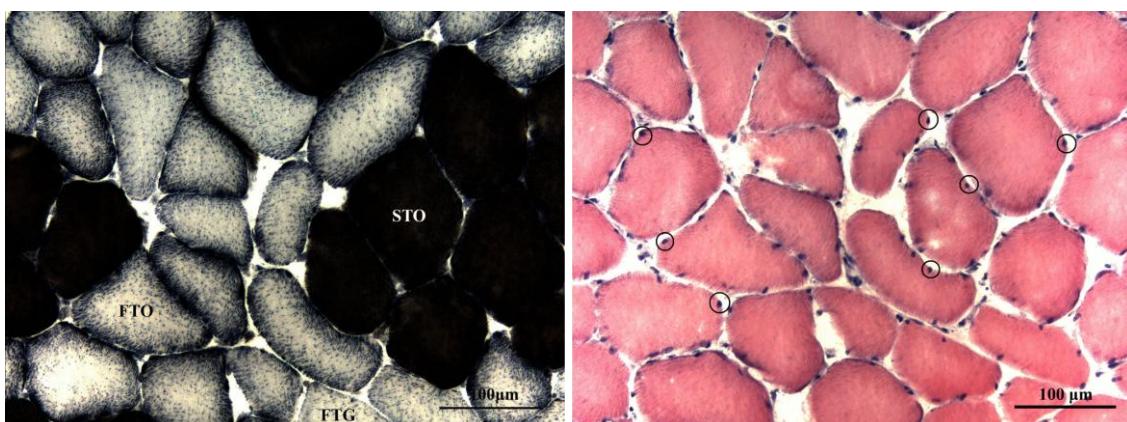
ovim preparatima uočava se različit intenzitet boje vlakana na osnovu čega se ona razvrstavaju u jedan od tri tipa: najintenzivnije obojena, tamna vlakna su sporo-okidajuća oksidativna STO vlakna; boja srednjeg intenziteta karakteristična je za brzo-okidajuća oksidativna FTO vlakna; dok najmanju koncentraciju boje i time najsvetlijii izgled vlakana imaju brzo-okidajuća glikolitička FTG vlakna. Na Slikama 21a i 21b prikazan je preparat istog preseka mišića jedne jedinke histološki bojen na dva različita načina, s tim što su preparati na slici 21a uzeti iz tamnog dela mišića, a preparati na slici 21b iz svetlog dela mišića. Na Slikama 22a i 22b su različito bojeni preparati istog preseka mišića druge jedinke, gde slika 22a prikazuje preparate tamnog dela mišića, a slika 22b preparate svetlog dela mišića. Na ovim slikama može se već na prvi pogled uočiti razlika u zastupljenosti pojedinih tipova vlakana u različitim partijama *m. semitendinosus*-a: u dubokom tamnom delu mišića veoma su zastupljena STO vlakna (slike 21a (levo) i 22a (levo)), dok se u svetlom delu mišića nalazi mali broj STO vlakana, a preovladavaju FTG vlakna (slike 21b (levo) i 22b (levo)).



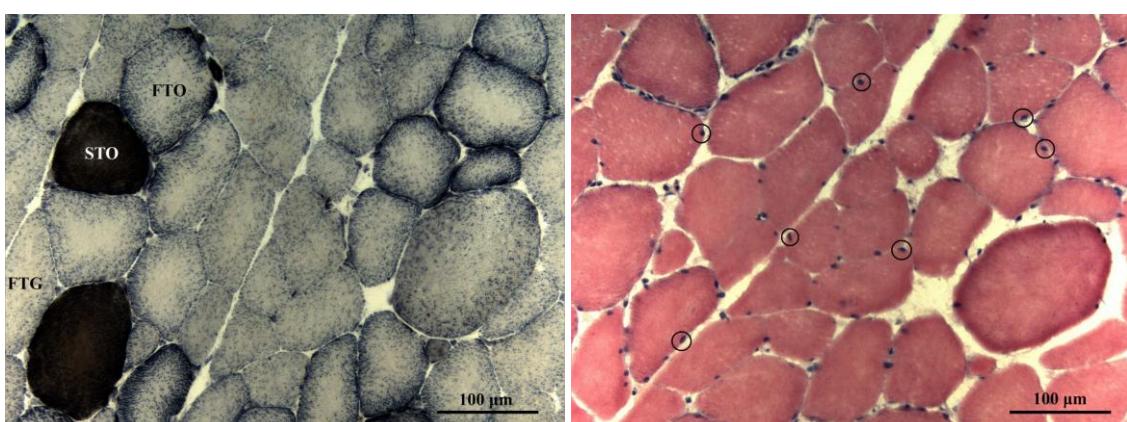
Slika 21a. Preparat tamnog dela mišića *m. semitendinosus* iste životinje: kombinovano bojenje na NADH-TR i ATP-azu radi utvrđivanja tipova vlakana (levo), i bojenje hematoksilin-eozinom radi utvrđivanja površine vlakana i broja jedara (desno), uveličanje objektiva 40× (STO - sporo okidajuća oksidativna; FTO - brzo okidajuća oksidativna; FTG – brzo okidajuća glikolitička mišićna vlakna)



Slika 21b. Preparat svetlog dela mišića *m. semitendinosus* iste životinje: kombinovano bojenje na NADH-TR i ATP-azu radi utvrđivanja tipova vlakana (levo), i bojenje hematoksilin-eozinom radi utvrđivanja površine vlakana i broja jedara (desno), uveličanje objektiva 40× (STO - sporo okidajuća oksidativna; FTO - brzo okidajuća oksidativna; FTG – brzo okidajuća glikolitička mišićna vlakna)



Slika 22a. Preparat tamnog dela mišića *m. semitendinosus* iste životinje: kombinovano bojenje na NADH-TR i ATP-azu radi utvrđivanja tipova vlakana (levo), i bojenje hematoksilin-eozinom radi utvrđivanja površine vlakana i broja jedara (desno), uveličanje objektiva 40× (STO - sporo okidajuća oksidativna; FTO - brzo okidajuća oksidativna; FTG – brzo okidajuća glikolitička mišićna vlakna)



Slika 22b. Preparat svetlog dela mišića *m. semitendinosus* iste životinje: kombinovano bojenje na NADH-TR i ATP-azu radi utvrđivanja tipova vlakana (levo), i bojenje hematoksilin-eozinom radi utvrđivanja površine vlakana i broja jedara (desno), uveličanje objektiva 40× (STO - sporo okidajuća oksidativna; FTO - brzo okidajuća oksidativna; FTG – brzo okidajuća glikolitička mišićna vlakna)

5.2 Eksperiment 1

U periodu od 85-og dana gestacije do kraja suprasnosti eksperimentalnoj grupi krmača je u smešu dodavan daidzein u količini 8 mg/kg hraniva. U smešu za ishranu je bila uključena sojina sačma.

5.2.1 Prasad

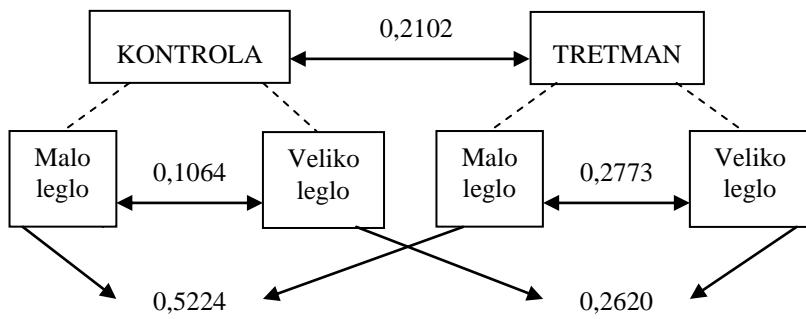
5.2.1.1 Proizvodne osobine

Prosečne vrednosti mase prasadi na rođenju u okviru kontrolne i eksperimentalne grupe, kao i u leglima različite veličine, u okviru kontrolne odnosno eksperimentalne grupe, prikazani su u Tabeli 14. Može se videti da je masa prasadi na rođenju kod potomstva krmača tretiranih daidzeinom (1,32 kg) bila za 100 g veća od mase prasadi netretiranih krmača (1,22 kg). Međutim ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,2102$) (Slika 23).

Takođe, utvrđene su brojčane razlike u masi prasadi na rođenju između legala različite veličine kako u okviru kontrolne, tako i u okviru ogledne grupe životinja. Masa prasadi je bila veća kod životinja iz manjih legala (Tabela 14), ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Slika 23). Uticaj tretiranja krmača daidzeinom na masu prasadi pri rođenju, nije bio statistički značajan ($p=0,5224$) pri poređenju prasadi iz manjih legala kao ni pri poređenju prasadi iz većih legala ($p=0,2620$) (Slika 23).

Tabela 14. Masa prasadi na rođenju u zavisnosti od tretmana i veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman	Kontrola		Tretman	
			Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	12	16	8	4	12	4
Masa prasadi, kg	1,22 \pm 0,05	1,32 \pm 0,05	1,32 \pm 0,06	1,13 \pm 0,08	1,37 \pm 0,05	1,26 \pm 0,08



Slika 23. Nivo statističke značajnosti (p) za masu prasadi u zavisnosti od tretmana i veličine legla

5.2.1.2 Morfološke osobine *m. semitendinosus-a*

U Tabeli 15 prikazan je uticaj tretmana na morfološke osobine *m. semitendinosus-a*: masu mišića, dužinu mišića, obim mišića i površinu poprečnog preseka mišića kod prasadi. U Tabeli 16 prikazane su srednje vrednosti ovih osobina mišića kod legala različite veličine u okviru kontrolne i tretirane grupe.

Tabela 15. Vrednosti morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus-a* u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi, LSM \pm SE

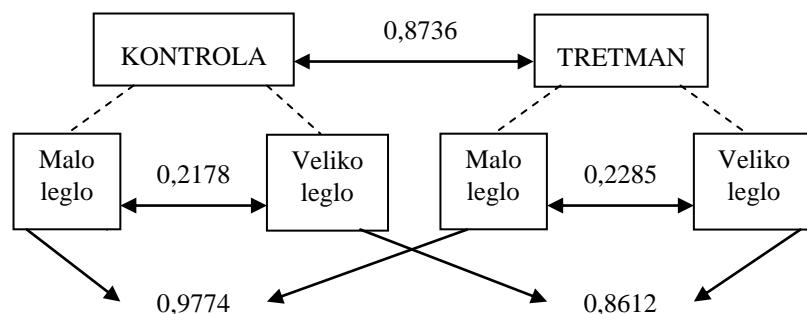
Osobina	Kontrola	Tretman
Broj prasadi (n)	12	16
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	2,72 \pm 0,16	2,80 \pm 0,14
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	4,73 \pm 0,16	4,97 \pm 0,15
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	3,65 \pm 0,13	3,62 \pm 0,11
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm ²	1,07 \pm 0,07	1,05 \pm 0,07

Tabela 16. Vrednosti morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus-a* u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

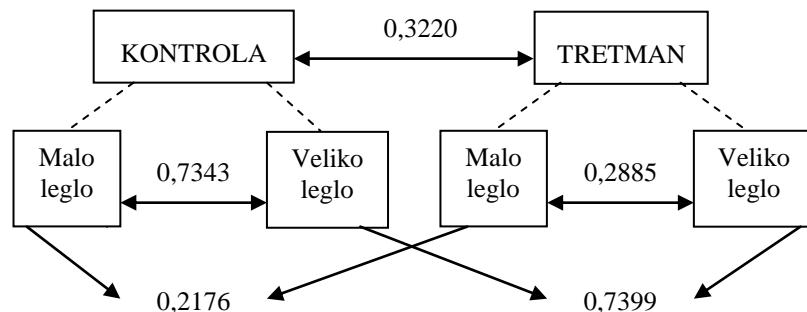
Osobina	Kontrola		Tretman	
	Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	8	4	12	4
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	2,98 \pm 0,20	2,54 \pm 0,25	2,99 \pm 0,14	2,61 \pm 0,25
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	4,79 \pm 0,21	4,68 \pm 0,25	5,14 \pm 0,15	4,80 \pm 0,25
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	3,78 \pm 0,16	3,53 \pm 0,19	3,66 \pm 0,11	3,58 \pm 0,19
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm ²	1,14 \pm 0,09	1,00 \pm 0,11	1,07 \pm 0,07	1,03 \pm 0,11

Rezultati prikazani u navedenim tabelama ukazuju da tretman krmača daidzeinom nije imao uticaj ni na jednu od posmatranih morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus-a* kod prasadi (Slike 24, 25, 26 i 27). Kao i kod mase prasadi na rođenju, rezultati posmatranih osobina bili su brojčano veći kod prasadi iz malih legala u odnosu na prasad iz velikih legala, kako u okviru kontrolne, tako i u okviru eksperimentalne grupe

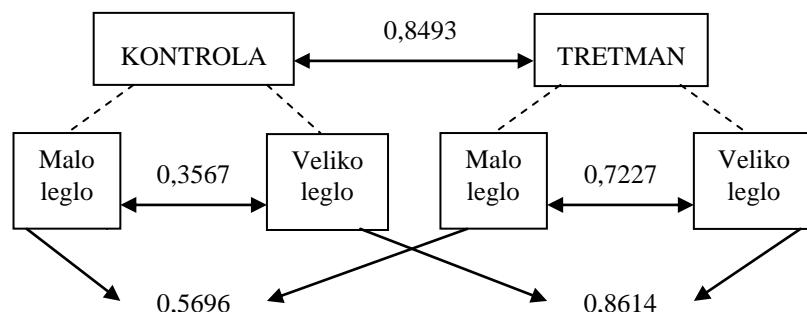
(Tabela 16), ali te razlike nisu bile statistički značajne (Slike 24, 25, 26 i 27). Interakcija tretmana i veličine legla nije imala statistički značajan uticaj na morfološke osobine *m. semitendinosus*-a (Slike 24, 25, 26 i 27).



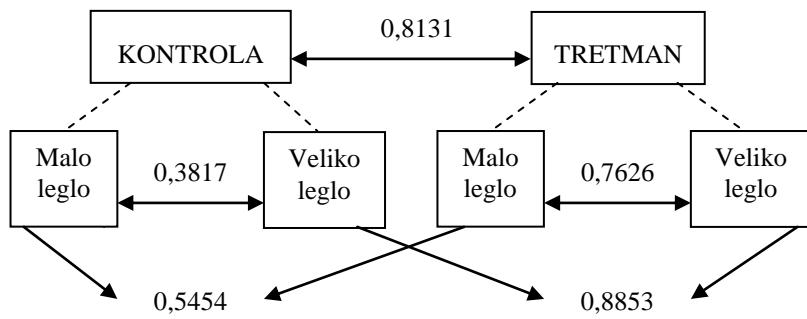
Slika 24. Nivo statističke značajnosti (p) za masu *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 25. Nivo statističke značajnosti (p) za dužinu *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 26. Nivo statističke značajnosti (p) za obim *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 27. Nivo statističke značajnosti (p) za površinu *m. semitendinosus-a* u zavisnosti od tretmana i veličine legla

5.2.1.3 Histološke osobine *m. semitendinosus-a*

Rezultati histoloških analiza strukture mišića *m. semitendinosus-a*, u zavisnosti od tretiranja krmača daidzeinom tokom faze kasne suprasnosti, prikazani su u Tabelama 17 i 18. Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku *m. semitendinosus-a*, bio je veći kod prasadi tretiranih krmača (ogledna grupa). Iz Tabele 17 se može videti da je ukupan broj vlakana iznosio 352.296 kod kontrolne grupe, i 368.003 kod ogledne grupe prasadi. Od tog broja su kod kontrolne grupe 13.200, a kod ogledne grupe 14.631 činila primarna vlakna, a broj sekundarnih vlakana iznosio je 339.096 kod kontrolne, i 353.372 kod ogledne grupe (Tabela 17). Iako je broj vlakana (ukupan, primarna i sekundarna) bio veći kod eksperimentalne grupe, razlike u ukupnom broju vlakana, odnosno broju pojedinih tipova vlakana između kontrolne i eksperimentalne grupe životinja nisu bile statistički značajne (Slike 28, 29 i 30).

Tabela 17. Ukupan broj, broj primarnih i broj sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus-u* prasadi u kontrolnoj i tretiranoj grupi, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman
Broj prasadi (n)	12	16
Ukupan broj vlakana	352296 \pm 18749	368003 \pm 16770
Broj primarnih vlakana	13200 \pm 762,55	14631 \pm 682,04
Broj sekundarnih vlakana	339096 \pm 18085	353372 \pm 16176

Uticaj veličine legla na vrednosti ukupnog broja vlakana i pojedinih tipova vlakana kod prasadi, kontrolne i tretirane grupe životinja, prikazan je u Tabeli 18. Na Slikama 28, 29

i 30 dati su grafički prikazi značajnosti razlika u pogledu ispitivanih osobina između eksperimentalnih grupa i u zavisnosti od veličine legla.

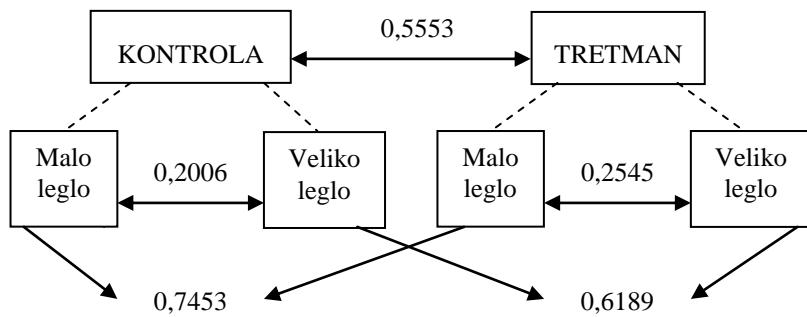
Prasad iz malih legala imala su veće vrednosti broja mišićnih vlakana u odnosu na prasad iz većih legala. Ukupan broj vlakana bio je veći kod prasadi iz malih legala, i to za oko 54 000, kod kontrolne grupe. Kod eksperimentalne grupe uticaj veličine legla postoji ali je manji nego kod kontrolne grupe, obzirom da je ukupan broj vlakana kod prasadi iz malog legla eksperimentalne grupe veći za 43 000, u odnosu na prasad iz velikih legala. Ove razlike nisu bile statistički značajne (Slika 28).

Veličina legla imala je statistički značajan uticaj na broj primarnih vlakana u okviru kontrolne grupe životinja ($p=0,05$) (Slika 29), gde je značajno veći broj vlakana ovog tipa utvrđen u okviru malog legla (15.053) u odnosu na veliko leglo (11.347) (Tabela 18). Između malog i velikog legla u okviru tretmana nije bilo razlike u broju primarnih vlakana (Tabela 18, Slika 29).

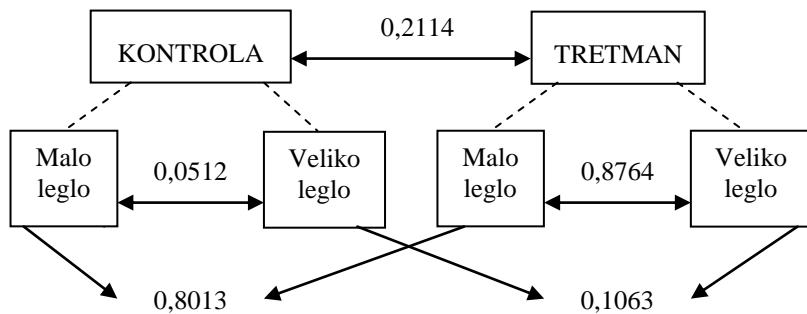
Broj sekundarnih vlakana bio je brojčano veći kod jedinki iz malih legala kako u okviru kontrolne tako i u okviru eksperimentalne grupe, ali razlike nisu bile statistički značajne (Slika 30). Interakcija tretmana i veličine legla nije uticala na posmatrane osobine (Slike 28, 29 i 30).

Tabela 18. Ukupan broj, broj primarnih i broj sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

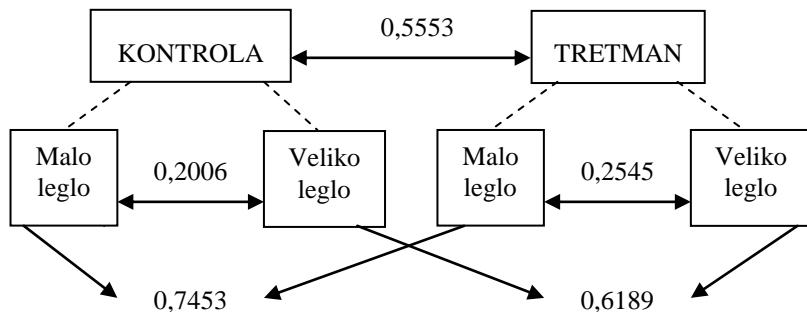
Osobina	Kontrola		Tretman	
	Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	8	12	4	4
Ukupan broj vlakana	379248 \pm 23716	325343 \pm 29046	389131 \pm 16770	346876 \pm 29046
Broj primarnih vlakana	15053 \pm 964,55	11347 \pm 1181,33	14742 \pm 682,04	14520 \pm 1181,33
Broj sekundarnih vlakana	364196 \pm 22876	313996 \pm 28018	374389 \pm 16176	332355 \pm 28018



Slika 28. Nivo statističke značajnosti (p) za ukupan broj vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 29. Nivo statističke značajnosti (p) za broj primarnih vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 30. Nivo statističke značajnosti (p) za broj sekundarnih vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla

Procentualna zastupljenost primarnih vlakana kao i odnos sekundarna:primarna vlakna kod prasadi kontrolne i ogledne grupe prikazani su u Tabeli 19, dok su u Tabeli 20 prikazane ove osobine i u zavisnosti od veličine legla. Kako se može videti, procenat primarnih vlakana je bio veoma ujednačen između prasadi kontrolne i ogledne (tretman-daidzein) grupe i kretao se od 3,76% kod kontrolne do 3,96% kod tretirane grupe. Odnos sekundarna:primarna vlakna bio je 25,90 kod kontrolne, odnosno 24,75 kod tretirane grupe (Tabela 19). Nije utvrđen statistički značajan uticaj tretmana na navedene osobine (Slike 31 i 32). Slična procentualna zastupljenost primarnih vlakana i

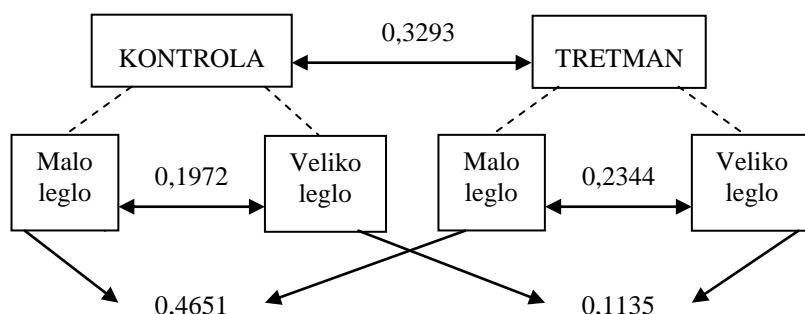
odnos sekundarna:primarna vlakna uočeni su i kod malih i velikih legala u okviru kontrolne odnosno eksperimentalne grupe (Tabela 20). Nisu utvrđene statistički značajne razlike između legala različite veličine u okviru kontrolne i tretirane grupe pojedinačno, kao ni uticaj interakcije tretmana i veličine legla (Slike 31 i 32).

Tabela 19. Udeo pojedinih tipova vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi, LSM \pm SE

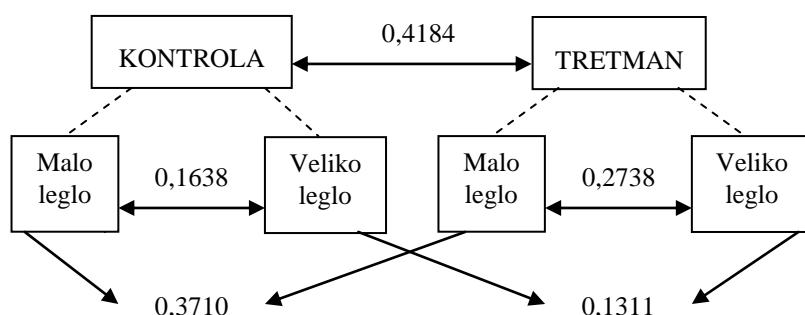
Osobina	Kontrola	Tretman
Broj prasadi (n)	12	16
Primarna vlakna, %	3,76 \pm 0,14	3,96 \pm 0,13
Odnos sekundarna:primarna vlakna	25,90 \pm 0,99	24,75 \pm 0,88

Tabela 20. Udeo pojedinih tipova vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola		Tretman	
	Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi	8	12	4	4
Primarna vlakna, %	3,97 \pm 0,18	3,56 \pm 0,22	3,80 \pm 0,13	4,13 \pm 0,22
Odnos sekundarna:primarna vlakna	24,33 \pm 1,25	27,47 \pm 1,53	25,81 \pm 0,88	23,64 \pm 1,53



Slika 31. Nivo statističke značajnosti (p) za procenat primarnih vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 32. Nivo statističke značajnosti (p) za odnos sekundarna:primarna vlakna u zavisnosti od tretmana i veličine legla

5.2.2 Tovljenici

5.2.2.1 Proizvodne osobine

U Tabeli 21 prikazani su rezultati proizvodnih osobina: masa na rođenju (početna) i klanična (završna) masa tovljenika. Masa na rođenju bila je ujednačena ($p=0,54$) i iznosila je 1,23 kg kod jedinki iz kontrolne grupe, i 1,26 kg kod jedinki iz ogledne grupe. Masa na kraju tova, odnosno masa na klanju varirala je od 103,09 kg u tretiranoj grupi do 108,35 kg kod netretiranih životinja, pri čemu razlika u masi nije bila statistički značajna ($p=0,15$). Tretiranje suprasnih krmača daidzeinom nije imalo uticaja na masu tovljenika pri klanju.

Tabela 21. Uticaj tretmana na proizvodne osobine tovljenika (LSM \pm SE)

Osobina	Kontrola	Tretman	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,23 \pm 0,03 (88)	1,26 \pm 0,04 (84)	0,54
Klanična masa, kg (n)	108,35 \pm 2,35 (30)	103,09 \pm 2,22 (32)	0,15

Ispitivanje uticaja tretmana u okviru malog, odnosno velikog legla, pokazalo je da nema statistički značajnog efekta tretmana ni na masu na rođenju, ni na klaničnu masu tovljenika kako unutar malog legla, tako ni unutar velikog legla (Tabela 22).

Tabela 22. Uticaj tretmana na proizvodne osobine tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola	Tretman	p	Kontrola	Tretman	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,34 \pm 0,05 (41)	1,33 \pm 0,04 (55)	0,68	1,11 \pm 0,04 (47)	1,20 \pm 0,04 (29)	0,24
Klanična masa, kg (n)	110,81 \pm 3,14 (17)	105,50 \pm 2,35 (23)	0,22	105,88 \pm 3,50 (13)	100,69 \pm 3,77 (9)	0,35

Ukoliko se posmatra uticaj tretmana na masu na rođenju i klaničnu masu tovljenika, po polovima, može se reći da iako postoje brojčane razlike u srednjim vrednostima za ove osobine između jedinki muškog i ženskog pola, kontrolnih i oglednih životinja, ove razlike ipak nisu statistički značajne (Tabela 23.).

Tabela 23. Uticaj tretmana na proizvodne osobine tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola	Tretman	p	Kontrola	Tretman	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,25 \pm 0,04 (42)	1,30 \pm 0,06 (23)	0,50	1,21 \pm 0,04 (46)	1,22 \pm 0,04 (61)	0,84
Klanična masa, kg (n)	110,51 \pm 2,82 (15)	105,84 \pm 2,66 (15)	0,23	106,18 \pm 2,71 (15)	100,35 \pm 2,62 (17)	0,13

Polazeći od činjenice da tretman kao faktor nije imao statistički značajan efekat na masu na rođenju i klaničnu masu, ispitana je uticaj veličine legla na ove osobine za sve životinje, bez obzira da li su pripadale kontrolnoj ili oglednoj grupi, i bez obzira kog su bile pola.

Prasad iz malog legla imala su veću masu na rođenju i masu na klanju. Utvrđena je statistički veoma značajno veća masa na rođenju ($p=0,01$), kod prasadi iz malog legla (1,34 kg) u odnosu na prasad iz velikog legla (1,15 kg) (Tabela 24.). Ipak, pri završnom uzrastu tova, odnosno prilikom klanja nije bilo statistički značajne razlike u masi kod životinja iz malog legla u odnosu na životinje iz velikog legla ($p=0,18$).

Tabela 24. Uticaj veličine legla na proizvodne osobine tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo	Veliko leglo	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,34 \pm 0,03 (96)	1,15 \pm 0,03 (76)	0,01
Klanična masa, kg (n)	108,16 \pm 1,96 (40)	103,28 \pm 2,57 (22)	0,18

Takođe je analiziran uticaj pola kao faktora na masu na rođenju i klaničnu masu, gde su za poređenje uzete sve životinje muškog, odnosno sve životinje ženskog pola, bez obzira da li su bile tretirane ili netretirane, i da li su poticale iz malog ili velikog legla. Utvrđen je značajan efekat pola ($p=0,02$) na klaničnu masu, pri čemu su jedinke muškog pola bile prosečne mase 108,17 kg, a jedinke ženskog pola 103,27 kg (Tabela 25). Pol kao faktor nije imao efekat na masu životinja na rođenju.

Tabela 25. Uticaj pola na proizvodne osobine tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol	Ženski pol	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,28 \pm 0,04 (65)	1,22 \pm 0,03 (107)	0,20
Klanična masa, kg (n)	108,17 \pm 1,94 (30)	103,27 \pm 1,88 (32)	0,02

5.2.2.2 Morfološke osobine *m. semitendinosus-a*

Rezultati o uticaju tretiranja krmača daidzeinom na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus-a* potomstva prikazani su u Tabeli 26. Tretman nije imao efekat na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus-a* tovljenika, obzirom da su prosečne vrednosti za ove osobine bile gotovo identične kod oglednih i eksperimentalnih

životinja: masa mišića se kretala oko 470 g, dužina mišića oko 23 cm, obim mišića oko 21 cm, a površina poprečnog preseka mišića bila je od $35,77 \text{ cm}^2$ (kod životinja iz kontrolne grupe) do $37,28 \text{ cm}^2$ (kod eksperimentalnih životinja) (Tabela 26).

Tabela 26. Uticaj tretmana na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=16)	Tretman (n=15)	p
Masa mišića, g	$470,68 \pm 30,07$	$472,15 \pm 29,07$	0,97
Dužina mišića, cm	$23,74 \pm 0,72$	$23,26 \pm 0,62$	0,64
Obim mišića, cm	$21,17 \pm 0,57$	$21,62 \pm 0,55$	0,60
Površina poprečnog preseka mišića, cm^2	$35,77 \pm 1,85$	$37,28 \pm 1,77$	0,59

Između kontrolnih i oglednih životinja je utvrđena razlika u vrednostima za pojedine morfološke osobine posmatrano zasebno u malom leglu, i zasebno u velikom leglu (Tabela 27), pri čemu su svi parametri bili veći u tretiranoj grupi u okviru malog legla, odnosno manji u tretiranoj grupi velikog legla. Međutim, ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 27).

Tabela 27. Uticaj tretmana na morfološke osobine mišića tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE, (n)

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=13)	Tretman (n=10)	p	Kontrola (n=3)	Tretman (n=5)	p
Masa mišića, g	$463,39 \pm 28,78$	$492,21 \pm 31,61$	0,54	$477,97 \pm 52,89$	$452,09 \pm 48,95$	0,74
Dužina mišića, cm	$23,06 \pm 0,63$	$24,25 \pm 0,71$	0,28	$24,42 \pm 1,31$	$22,26 \pm 1,01$	0,26
Obim mišića, cm	$21,05 \pm 0,54$	$21,99 \pm 0,60$	0,31	$21,29 \pm 1,00$	$21,25 \pm 0,92$	0,98
Površina poprečnog preseka mišića, cm^2	$35,44 \pm 1,75$	$38,56 \pm 1,95$	0,30	$36,10 \pm 3,27$	$35,99 \pm 2,96$	0,98

Takođe, ni interakcija tretmana i pola nije imala efekte na morfološke osobine mišića (Tabela 28). Tretman nije uslovio značajne razlike u vrednostima za pojedine osobine mišića ni u okviru muškog, ni u okviru ženskog pola.

Tabela 28. Uticaj tretmana na morfološke osobine mišića tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=8)	Tretman (n=8)	p	Kontrola (n=8)	Tretman (n=7)	p
Masa mišića, g	$449,59 \pm 33,80$	$460,69 \pm 32,51$	0,82	$491,77 \pm 32,30$	$483,61 \pm 32,61$ (7)	0,86
Dužina mišića, cm	$23,01 \pm 0,96$	$22,94 \pm 0,81$	0,95	$24,47 \pm 0,87$	$23,57 \pm 0,89$	0,48
Obim mišića, cm	$21,03 \pm 0,65$	$21,37 \pm 0,62$	0,71	$21,31 \pm 0,62$	$21,88 \pm 0,63$	0,53
Površina poprečnog preseka mišića, cm^2	$35,35 \pm 2,14$	$36,41 \pm 2,03$	0,73	$36,18 \pm 2,03$	$38,15 \pm 2,05$	0,50

Polazeći od činjenice da nije utvrđen značajan efekat tretmana na masu, dužinu, obim i površinu poprečnog preseka mišića, ispitani je uticaj samo veličine legla kao faktora na ove osobine. Kao i kod klanične mase (Tabela 24), tako ni kod morfoloških osobina mišića nije uočena statistički značajna razlika između pojedinih osobina kod životinja iz malog legla u odnosu na životinje iz velikog legla (Tabela 29).

Tabela 29. Uticaj veličine legla na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Malo leglo (n=23)	Veliko leglo (n=8)	p
Masa mišića, g	477,80±21,37	465,03±36,03	0,78
Dužina mišića, cm	23,65±0,47	23,34±0,83	0,76
Obim mišića, cm	21,52±0,40	21,27±0,68	0,77
Površina poprečnog preseka mišića, cm ²	37,00±1,31	36,04±2,21	0,73

Kod jedinki ženskog pola uočena je brojčano nešto veća masa mišića *m. semitendinosus*-a (487,69 g) u odnosu na muške životinje (455,14 g) (Tabela 30). Ali ni za ovu, ni za ostale morfološke osobine nije utvrđena statistički značajna razlika između jedinki različitog pola (Tabela 30).

Tabela 30. Uticaj pola na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Muški pol (n=16)	Ženski pol (n=15)	p
Masa mišića, g	455,14±23,45	487,69±22,95	0,12
Dužina mišića, cm	22,98±0,63	24,02±0,62	0,21
Obim mišića, cm	21,20±0,45	21,59±0,44	0,35
Površina poprečnog preseka mišića, cm ²	35,88±1,47	37,16±1,44	0,37

5.2.2.3 Histološke osobine *m. semitendinosus*-a

Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku mišića kretao se od 882.162 vlakana kod kontrolnih jedinki do 1.008.844 vlakana kod tretiranih životinja. Iako je broj vlakana bio veći u eksperimentalnoj grupi za oko 126.700, ova razlika statistički nije potvrđena kao značajna, kao takođe ni razlika (od oko 22.000) u broju vlakana na 1cm² površine mišića (Tabela 31).

Tabela 31. Uticaj tretmana na broj mišićnih vlakana tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Kontrola (n=15)	Tretman (n=14)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	882162±60162	1008844±58793	0,21
Broj vlakana na 1cm ² površine mišića	24756±1592,51	26980±1508,33	0,37

Sličan odnos može se primetiti i pri poređenju kontrolnih i eksperimentalnih jedinki zasebno u okviru malog, odnosno velikog legla. I u okviru malog, i u okviru velikog legla tretirane životinje imale su veće vrednosti za ukupan broj vlakana na poprečnom preseku i broj vlakana na 1cm^2 površine mišića, međutim razlike u vrednostima nisu bile statistički značajne (Tabela 32).

Tabela 32. Uticaj tretmana na broj mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=12)	Tretman (n=3)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=4)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	914048 \pm 57877	992206 \pm 63045	0,41	850275 \pm 106078	1025481 \pm 99257	0,29
Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića	25782 \pm 1484,86	26060 \pm 1628,31	0,91	23729 \pm 2842,71	27900 \pm 2539,45	0,34

Pri ispitivanju uticaja tretmana u okviru različitih polova, ustanovljena je tendencija uticaja tretiranja krmača daidzeinom ($p=0,07$) ka većem ukupnom broju vlakana na poprečnom preseku mišića kod životinja ženskog pola čije su majke bile tretirane (1.106.724 vlakana) u odnosu na kontrolne ženke (922.744 vlakana) (Tabela 33).

Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku mišića nije se razlikovao kod kontrolnih i eksperimentalnih životinja muškog pola. Pored toga nije primećen statistički značajan efekat tretmana na broj vlakana na 1cm^2 površine mišića kod muških tovljenika. Kod jedinki ženskog pola, tretiranje krmača daidzeinom dovelo je do većeg broja (za 3.900) vlakana po 1cm^2 . Međutim, razlike u odnosu na kontrolnu grupu nisu bile statistički potvrđene kao značajne (Tabela 33).

Tabela 33. Uticaj tretmana na broj mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=8)	Tretman (n=7)	p	Kontrola (n=7)	Tretman (n=7)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	841579 \pm 69816	910964 \pm 69403	0,49	922744 \pm 67278	1106724 \pm 66807	0,07
Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića	24343 \pm 1999,2	24891 \pm 1920,24	0,85	25168 \pm 1893,36	29069 \pm 1874,04	0,16

Uticaj veličine legla, kao jedinog faktora, na ukupan broj vlakana i broj vlakana na 1cm^2 površine mišića, posmatran je na svim životinjama grupno, bez obzira na pripadnost polu, i bez obzira da li su životinje pripadale kontrolnoj ili oglednoj grupi (obzirom da

tretman nije pokazao značajne efekte). Ustanovljeno je da veličina legla nema značajan uticaj na ove dve posmatrane osobine kod tovljenika (Tabela 34).

Tabela 34. Uticaj veličine legla na broj mišićnih vlakana tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Malo leglo (n=22)	Veliko leglo (n=7)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	953127±42791,00	937878±72637,00	0,87
Broj vlakana na 1cm ² površine mišića	25921±1101,84	25815±1905,90	0,96

Pri analiziranju uticaja pola kao faktora, na svim životinjama bez obzira na veličinu legla kojoj su mužjaci odnosno ženke pripadali, i bez obzira na pripadnost kontrolnoj ili eksperimentalnoj grupi, uočena je visoko značajna razlika u ukupnom broju vlakana na poprečnom preseku mišića ($p=0,01$), koji je bio značajno veći kod ženskih nego kod muških životinja. Kod životinja muškog pola iznosio je 876.271 vlakana, a kod životinja ženskog pola 1.014.734 vlakana (Tabela 35). Broj vlakana na 1cm² površine mišića bio je, takođe, brojčano veći kod ženskih u odnosu na muške životinje, ali ta razlika nije bila statistički značajna.

Tabela 35. Uticaj pola na broj mišićnih vlakana tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=14)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	876271±49222,00	1014734±47407,00	0,01
Broj vlakana na 1cm ² površine mišića	24617±1386,01	27119±1331,99	0,14

Ispitivanje uticaja tretmana na površinu pojedinih tipova vlakana pokazalo je brojčano manje vrednosti za sve ispitivane osobine: površinu STO, FTO i FTG vlakana i prosečnu površinu vlakna kod tretiranih životinja u odnosu na netretirane, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 36). Najveću površinu imala su STO vlakna, od 4315,61 μm² kod tretiranih do 4654,45 μm² kod kontrolnih životinja, a najmanje površine bila su FTG vlakna od 3558,25 μm² kod eksperimentalnih životina do 3794,77 μm² kod kontrolnih.

Tabela 36. Uticaj tretmana na površinu (μm²) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Kontrola (n=15)	Tretman (n=14)	p
Površina STO vlakna	4654,45±521,77	4315,61±514,72	0,67
Površina FTO vlakna	4360,03±345,76	3778,83±337,52	0,30
Površina FTG vlakna	3794,77±207,82	3558,25±190,03	0,45
Prosečna površina vlakna	4123,80±251,94	3777,13±237,75	0,37

Isti odnos između tretiranih i netretiranih jedinki može se primetiti i u okviru zasebno posmatranog malog, odnosno velikog legla, gde su srednje vrednosti svih posmatranih obeležja bile manje kod tretiranih životinja u odnosu na kontrolne, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 37).

Tabela 37. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=12)	Tretman (n=3)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=4)	p
Površina STO vlakna	4639,17 \pm 507,45	4398,72 \pm 547,16	0,76	4669,72 \pm 915,66	4232,50 \pm 872,00	0,75
Površina FTO vlakna	4174,68 \pm 332,23	4100,15 \pm 362,23	0,89	4545,38 \pm 609,96	3457,50 \pm 569,65	0,26
Površina FTG vlakna	3687,13 \pm 187,60	3659,00 \pm 203,15	0,92	3902,40 \pm 375,19	3457,50 \pm 321,21	0,42
Prosečna površina vlakna	4024,08 \pm 234,10	3921,76 \pm 256,57	0,78	4223,52 \pm 450,30	3632,50 \pm 400,35	0,38

Ukoliko se efekat tretmana posmatra u okviru zasebno muškog, odnosno ženskog pola, ponovo se uočavaju manje prosečne vrednosti površina svih tipova vlakana kod tretiranih životinja u odnosu na kontrolnu grupu. Ove razlike su brojčano nešto izraženije kod životinja ženskog pola, ali ni kod ženskih ni kod muških životinja nisu statistički značajne (Tabela 38).

Tabela 38. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=8)	Tretman (n=7)	p	Kontrola (n=7)	Tretman (n=7)	p
Površina STO vlakna	4913,61 \pm 584,97	4512,17 \pm 587,02	0,63	4395,28 \pm 568,27	4119,05 \pm 565,23	0,73
Površina FTO vlakna	4526,17 \pm 402,68	4189,56 \pm 399,83	0,56	4193,89 \pm 387,73	3368,10 \pm 384,95	0,15
Površina FTG vlakna	3801,98 \pm 277,10	3782,54 \pm 256,11	0,96	3787,56 \pm 259,20	3333,96 \pm 256,11	0,23
Prosečna površina vlakna	4234,36 \pm 318,59	4051,64 \pm 304,77	0,68	4013,24 \pm 301,26	3502,62 \pm 298,11	0,24

Ukoliko se porede sve životinje poreklom iz malih legala, bez obzira na pol i tretman, sa svim životinjama iz velikih legala, može se videti da nije bilo statistički značajnih razlika u prosečnim vrednostima površina STO, FTO i FTG vlakana i prosečnoj površini vlakana (Tabela 39). To ukazuje da veličina legla kao faktor nema uticaja na ispitivane osobine kod tovljenika.

Tabela 39. Uticaj veličine legla na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=22)	Veliko leglo (n=7)	p
Površina STO vlakna	4518,94 \pm 373,13	4451,11 \pm 632,22	0,93
Površina FTO vlakna	4137,42 \pm 245,74	4001,44 \pm 417,30	0,79
Površina FTG vlakna	3673,07 \pm 138,26	3679,65 \pm 246,95	0,98
Prosečna površina vlakna	3972,92 \pm 173,66 (22)	3928,01 \pm 301,27 (7)	0,90

Međutim, ukoliko se posmatra uticaj pola na navedena obeležja, uočava se statistički značajno manja površina FTO vlakana kod ženki ($3780,99 \mu\text{m}^2$) u odnosu na mužjake ($4357,86 \mu\text{m}^2$) (Tabela 40). I ostali tipovi vlakana bili su manje površine kod ženskih u odnosu na muške jedinke, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 40).

Tabela 40. Uticaj pola na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=14)	p
Površina STO vlakna	$4712,89 \pm 414,36$	$4257,16 \pm 400,75$	0,22
Površina FTO vlakna	$4357,86 \pm 283,73$	$3780,99 \pm 273,19$	0,05
Površina FTG vlakna	$3792,26 \pm 188,66$	$3560,76 \pm 182,19$	0,35
Prosečna površina vlakna	$4143,00 \pm 220,45$	$3757,93 \pm 211,91$	0,15

Rezultati o procentualnoj zastupljenosti pojedinih tipova vlakana u strukturi mišića prikazani su u Tabeli 41. Procentualno su najviše u mišiću bila zastupljena FTG vlakna, negde oko 50% i kod kontrolne i kod ogledne grupe. Oko 30% od ukupnog broja vlakana su činila FTO vlakna, a preostalih 20% činila su STO vlakna (Tabela 41). Tretman nije doveo do statistički značajnih promena u procentualnoj zastupljenosti pojedinih tipova vlakana u odnosu na kontrolnu grupu.

Tabela 41. Uticaj tretmana na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=15)	Tretman (n=14)	p
STO vlakna, %	$20,38 \pm 1,32$	$20,53 \pm 1,21$	0,94
FTO vlakna, %	$27,29 \pm 2,07$	$29,72 \pm 1,99$	0,44
FTG vlakna, %	$51,02 \pm 2,09$	$48,95 \pm 1,98$	0,51

Sličan odnos između pojedinih tipova vlakana primetan je i kod kontrolne i ogledne grupe u okviru zasebno malog, odnosno velikog legla (Tabela 42). U okviru malog legla uočen je nešto malo veći procenat STO vlakana i oko 4% više FTO vlakana kod eksperimentalne grupe, dok je procenat FTG vlakana za oko 5% manji kod tretiranih životinja, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 42). U velikom leglu procenat pojedinih tipova vlakana bio je približno jednak kod kontrolne i eksperimentalne grupe i iznosio oko 22% STO vlakana, oko 26% FTO vlakana i oko 50% FTG vlakana.

Tabela 42. Uticaj tretmana na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=12)	Tretman (n=3)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=4)	p
STO vlakna, %	18,45 \pm 1,20	19,20 \pm 1,30	0,69	22,31 \pm 2,39	21,87 \pm 2,05	0,89
FTO vlakna, %	28,92 \pm 1,96	32,70 \pm 2,15	0,26	25,66 \pm 3,67	26,74 \pm 3,35	0,84
FTG vlakna, %	52,00 \pm 1,94	47,32 \pm 2,13	0,18	50,04 \pm 3,74	50,58 \pm 3,33	0,92

Analizirana interakcija pola i tretmana kao faktora nije pokazala značajne efekte na zastupljenost pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus*-u tovljenika. Procenat STO vlakana iznosio je oko 20% kod oglednih i kontrolnih životinja kako muškog, tako i ženskog pola; procenat FTO vlakana kod mužjaka kretao se od 28% kod kontrolnih do 32% kod oglednih životinja, ali ova razlika nije bila statistički značajna, dok je procenat FTG vlakana bio veći kod kontrolne grupe, oko 50%, u odnosu na eksperimentalnu grupu, oko 47% (Tabela 43). Kod ženskih životinja je i procenat FTO i procenat FTG vlakana bio ujednačen kod kontrolne i ogledne grupe, i iznosio oko 27% FTO vlakana i oko 52% FTG vlakana (Tabela 43).

Tabela 43. Uticaj tretmana na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=8)	Tretman (n=7)	p	Kontrola (n=7)	Tretman (n=7)	p
STO vlakna, %	20,57 \pm 1,77	20,80 \pm 1,63	0,93	20,19 \pm 1,65	20,27 \pm 1,63	0,98
FTO vlakna, %	28,12 \pm 2,51	31,95 \pm 2,45	0,29	26,46 \pm 2,39	27,50 \pm 2,37	0,76
FTG vlakna, %	49,61 \pm 2,64	46,78 \pm 2,53	0,45	52,44 \pm 2,50	51,12 \pm 2,47	0,71

Ispitivanjem uticaja samo veličine legla kao faktora na procentualnu zastupljenost pojedinih tipova vlakana, bez obzira na pol životinja i pripadnost kontrolnoj ili tretiranoj grupi, mogu se uočiti brojčane razlike u procentu STO vlakana, koji je bio veći kod životinja iz velikog legla, oko 22%, u odnosu na životinje iz malog legla oko 19%; takođe se razlikovao i procenat FTO vlakana koji je bio veći kod malog legla, oko 31%, a dosta manji kod velikog legla, oko 26% (Tabela 44). Uočene razlike nisu bile statistički značajne. Procenat FTG vlakana bio je približno isti kod jedinki iz malih i velikih legala, oko 50% (Tabela 44).

Tabela 44. Uticaj veličine legla na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=22)	Veliko leglo (n=7)	p
STO vlakna, %	18,82 \pm 0,88	22,09 \pm 1,57	0,15
FTO vlakna, %	30,81 \pm 1,45	26,20 \pm 2,49	0,19
FTG vlakna, %	49,66 \pm 1,44	50,31 \pm 2,50	0,83

Posmatranjem pola kao faktora, i njegovog uticaja na zastupljenost pojedinih tipova vlakana u mišiću, može se uočiti da su STO vlakna bila približno jednako zastupljena kod jedinki različitih polova, oko 20%; FTO vlakna bila su u većem procentu zastupljena kod mužjaka, oko 30%, u odnosu na ženke gde je FTO vlakana bilo oko 27%; dok je kod mužjaka zabeležen manji procenat FTG vlakana, oko 48% u odnosu na ženke gde su FTG vlakna bila zastupljenija, oko 52% (Tabela 45). Ipak, uočene razlike u procentu FTO i FTG vlakana nisu bile statistički značajne.

Tabela 45. Uticaj pola na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=14)	p
STO vlakna, %	20,68 \pm 1,20	20,23 \pm 1,16	0,77
FTO vlakna, %	30,03 \pm 1,75	26,98 \pm 1,68	0,12
FTG vlakna, %	48,19 \pm 1,83	51,78 \pm 1,76	0,11

Dodavanje daidzeina u hranu suprasnih krmača nije imalo efekta na broj jedara po pojedinim tipovima vlakana kod potomstva (Tabela 46). I kod kontrolne i kod ogledne grupe tovljenika uočen je približno jednak broj jedara po jednom STO i po jednom FTG vlaknu, kao i prosečan broj jedara po vlaknu. Jedino je broj jedara po jednom FTO vlaknu bio brojčano manji kod tretiranih jedinki (1,66) u odnosu na kontrolne životinje (2,04), ali ni ova razlika, ni razlike u broju jedara po STO i FTG vlaknu, i prosečnom broju jedara po vlaknu, nisu bile statistički značajne.

Tabela 46. Uticaj tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=15)	Tretman (n=14)	p
Broj jedara po STO vlaknu	2,25 \pm 0,18	2,07 \pm 0,17	0,51
Broj jedara po FTO vlaknu	2,04 \pm 0,13	1,66 \pm 0,13	0,11
Broj jedara po FTG vlaknu	1,53 \pm 0,07	1,55 \pm 0,06	0,84
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,82 \pm 0,08	1,68 \pm 0,08	0,30

Ukoliko se uticaj tretmana ispituje u okviru zasebno malog, a zasebno velikog legla, može se uočiti da kod malog legla tretman nije imao efekte ni na jedno od posmatranih obeležja (Tabela 47), dok je kod velikog legla postojao jak trend ($p=0,06$) smanjenja broja jedara po jednom FTO vlaknu pod uticajem tretmana. Kod kontrolnih životinja zabeleženo je 2,34 jedra po jednom FTO vlaknu, a kod eksperimentalnih je broj jedara po jednom FTO vlaknu iznosio 1,52 (Tabela 47). Ostale posmatrane osobine (broj

jedara po STO i FTG vlaknu, prosečan broj jedara po vlaknu) nisu se statistički značajno razlikovale kod životinja iz velikog legla pod uticajem tretmana (Tabela 47).

Tabela 47. Uticaj tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=12)	Tretman (n=3)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=4)	p
Broj jedara po STO vlaknu	2,22 \pm 0,17	2,08 \pm 0,18	0,61	2,27 \pm 0,32	2,05 \pm 0,29	0,63
Broj jedara po FTO vlaknu	1,74 \pm 0,13	1,80 \pm 0,14	0,78	2,34 \pm 0,23	1,52 \pm 0,22	0,06
Broj jedara po FTG vlaknu	1,35 \pm 0,06	1,51 \pm 0,07	0,15	1,71 \pm 0,12	1,58 \pm 0,11	0,49
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,63 \pm 0,08	1,70 \pm 0,08	0,58	2,00 \pm 0,15	1,67 \pm 0,13	0,17

Ukoliko se uticaj tretmana ispituje u okviru pola, može se zaključiti da dodavanje daidzeina suprasnim krmačama nije imalo efekta na broj jedara po pojedinim tipovima vlakana kod potomaka mužjaka, dok je kod ženki jedino broj jedara po FTO vlaknu imao jaku tendenciju smanjenja ($p=0,06$) kod oglednih životinja (Tabela 48). Ostali parametri, ni kod ženskih životinja nisu bili značajno promenjeni pod uticajem tretmana.

Tabela 48. Uticaj tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=8)	Tretman (n=7)	p	Kontrola (n=7)	Tretman (n=7)	p
Broj jedara po STO vlaknu	2,27 \pm 0,23	2,08 \pm 0,22	0,56	2,22 \pm 0,22	2,05 \pm 0,22	0,59
Broj jedara po FTO vlaknu	2,08 \pm 0,16	1,73 \pm 0,15	0,13	2,01 \pm 0,15	1,59 \pm 0,15	0,06
Broj jedara po FTG vlaknu	1,52 \pm 0,09	1,57 \pm 0,08	0,67	1,53 \pm 0,08	1,52 \pm 0,08	0,91
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,84 \pm 0,11	1,72 \pm 0,10	0,42	1,80 \pm 0,10	1,65 \pm 0,10	0,31

Ispitivanje uticaja veličine legla kod svih životinja zajedno, bez obzira na pripadnost polu i kontrolnoj ili oglednoj grupi, na broj jedara po pojedinim tipovima vlakana pokazalo je da ovaj faktor nije značajnije uticao ni na jednu od posmatranih osobina (Tabela 49). Jedino je broj jedara po FTG vlaknu imao tendenciju povećanja ($p=0,09$) sa povećanjem veličine legla (Tabela 49).

Tabela 49. Uticaj veličine legla na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo(n=22)	Veliko leglo (n=7)	p
Broj jedara po STO vlaknu	2,15 \pm 0,12	2,16 \pm 0,22	0,98
Broj jedara po FTO vlaknu	1,77 \pm 0,09	1,93 \pm 0,16	0,43
Broj jedara po FTG vlaknu	1,43 \pm 0,05	1,64 \pm 0,08	0,09
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,67 \pm 0,06	1,83 \pm 0,10	0,22

Uticaj pola kao jedinog faktora nije bio izražen na broj jedara po STO, FTO i FTG vlaknu, kao ni na prosečan broj jedara po jednom vlaknu, obzirom da su zabeležene skoro jednake vrednosti datih osobina kod mužjaka i kod ženki (Tabela 50).

Tabela 50. Uticaj pola na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=14)	p
Broj jedara po STO vlaknu	2,17±0,16	2,14±0,15	0,85
Broj jedara po FTO vlaknu	1,90±0,11	1,80±0,11	0,37
Broj jedara po FTG vlaknu	1,55±0,06	1,53±0,06	0,82
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,78±0,07	1,72±0,07	0,55

Površina pojedinih tipova vlakana po jednom jedru nije se značajno menjala pod uticajem tretmana (Tabela 51). Površina STO vlakna po jednom jedru bila je gotovo identična kod kontrolnih i oglednih životinja, oko $482 \mu\text{m}^2$. Površina FTO vlakna po jednom jedru bila je nešto veća kod kontrolnih ($470,11 \mu\text{m}^2$) u odnosu na ogledne životinje ($441,80 \mu\text{m}^2$), dok je površina FTG vlakna po jednom jedru bila veća kod tretiranih životinja ($439,78 \mu\text{m}^2$) u odnosu na kontrolnu grupu ($405,20 \mu\text{m}^2$). Prosečna površina vlakna po jednom jedru neznatno je varirala, a razlike u posmatranim osobinama između kontrolne i eksperimentalne grupe nisu bile statistički značajne (Tabela 51).

Tabela 51. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru, LSM ± SE

Osobina	Kontrola (n=15)	Tretman (n=14)	p
Površina STO vlakna po jedru	482,51±24,47	481,20±22,63	0,97
Površina FTO vlakna po jedru	470,11±18,37	441,80±16,83	0,32
Površina FTG vlakna po jedru	405,20±25,45	439,78±25,09	0,39
Prosečna površina vlakna po jedru	443,50±16,19	450,08±15,55	0,78

Slično tome, tretman nije imao značajne efekte na površine pojedinih tipova vlakana po jednom jedru ni u okviru zasebno malog odnosno velikog legla. Kao i kod efekta tretmana grupno na sve životinje, tako je i između kontrolnih i oglednih životinja u okviru malog legla, i u okviru velikog legla, površina STO vlakna po jednom jedru bila skoro jednaka, dok su kod drugih osobina zabeležene brojčane razlike između kontrole i tretmana, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 52).

Tabela 52. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=12)	Tretman (n=3)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=4)	p
Površina STO vlakna po jedru	477,69 \pm 22,31	475,64 \pm 24,30	0,95	487,33 \pm 44,03	486,75 \pm 38,18	0,99
Površina FTO vlakna po jedru	423,18 \pm 16,61	435,60 \pm 18,01	0,64	517,05 \pm 33,14	448,00 \pm 28,44	0,19
Površina FTG vlakna po jedru	373,50 \pm 24,73	420,56 \pm 26,69	0,27	436,90 \pm 44,68	459,00 \pm 42,49	0,74
Prosečna površina vlakna po jedru	411,63 \pm 15,30	437,41 \pm 16,78	0,32	475,37 \pm 28,75	462,75 \pm 26,18	0,76

Tretman nije imao statistički značajne efekte na površine pojedinih tipova vlakana po jednom jedru ni u okviru pola (Tabela 53). Najveće brojčane razlike zabeležene su u površini FTO vlakana po jednom jedru kod mužjaka gde su kontrolne životinje imale za oko $50 \mu\text{m}^2$ veću površinu ovog tipa vlakna po jedru u odnosu na eksperimentalne jedinke, dok je kod ženki površina FTG vlakna po jednom jedru bila za isto toliko - oko $50 \mu\text{m}^2$ veća kod oglednih u odnosu na kontrolne životinje (Tabela 53). Ipak, ni ove razlike nisu bile statistički značajne.

Tabela 53. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=8)	Tretman (n=7)	p	Kontrola (n=7)	Tretman (n=7)	p
Površina STO vlakna po jedru	461,50 \pm 32,08	467,68 \pm 30,01	0,89	503,52 \pm 30,11	494,71 \pm 29,76	0,84
Površina FTO vlakna po jedru	464,26 \pm 24,42	411,63 \pm 22,62	0,13	475,97 \pm 22,86	471,98 \pm 22,59	0,90
Površina FTG vlakna po jedru	406,91 \pm 28,62	423,84 \pm 28,70	0,68	403,50 \pm 27,78	455,71 \pm 27,63	0,20
Prosečna površina vlakna po jedru	441,61 \pm 19,71	429,64 \pm 19,22	0,67	445,39 \pm 18,79	470,53 \pm 18,62	0,35

Između jedinki poreklom iz malog i jedinki poreklom iz velikog legla, bez obzira na pol i pripadnost kontrolnoj odnosno oglednoj grupi, nisu uočene statistički značajne razlike u površini pojedinih tipova vlakana po jednom jedru (Tabela 54). Zabeležena je jedino tendencija ($p=0,10$) povećanja površine FTO vlakna po jedru sa povećanjem veličine legla.

Tabela 54. Uticaj veličine legla na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=22)	Veliko leglo (n=7)	p
Površina STO vlakna po jedru	476,67 \pm 16,49	487,04 \pm 29,14	0,77
Površina FTO vlakna po jedru	429,39 \pm 12,25	482,52 \pm 21,84	0,10
Površina FTG vlakna po jedru	397,03 \pm 18,19	447,95 \pm 30,83	0,23
Prosečna površina vlakna po jedru	424,52 \pm 11,35	469,06 \pm 19,44	0,12

Statističkom analizom uticaja pola na površinu pojedinih tipova vlakana po jednom jedru, utvrđeno je da ovaj faktor nije imao efekta na posmatrana obeležja, obzirom da

brojčane razlike koje su zabeležene po pojedinim osobinama između jedinki različitog pola, nisu bile statistički značajne (Tabela 55).

Tabela 55. Uticaj pola na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=14)	p
Površina STO vlakna po jedru	464,59 \pm 21,96	499,12 \pm 21,17	0,22
Površina FTO vlakna po jedru	437,95 \pm 16,65	473,97 \pm 16,07	0,11
Površina FTG vlakna po jedru	415,38 \pm 20,26	429,61 \pm 19,59	0,43
Prosečna površina vlakna po jedru	435,62 \pm 13,77	457,96 \pm 13,22	0,15

5.3 Eksperiment 2

Od 85-og dana gestacije eksperimentalnoj grupi krmača je u smešu za ishranu dodavan čist, sintetički daidzein u količini 1 mg po kg telesne mase dnevno. Za razliku od Eksperimenta 1, smeše za ishranu krmača u Eksperimentu 2 nisu sadržale soju.

5.3.1 Prasad

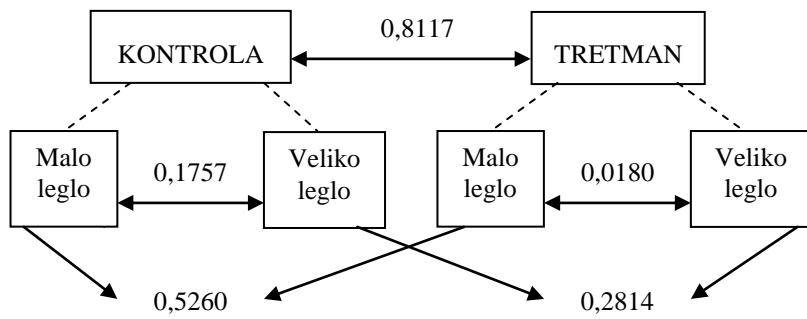
5.3.1.1 Proizvodne osobine

Rezultati o masi prasadi na rođenju u okviru kontrolne i ogledne grupe, kao i u malom i velikom leglu pojedinačno u kontrolnoj i tretiranoj grupi životinja dati su u Tabeli 56. Masa prasadi u kontrolnoj grupi iznosila je 1,28 kg, a masa prasadi u eksperimentalnoj grupi bila je 1,26 kg, i nije se statistički značajno razlikovala od kontrolne ($p=0,8117$) (Slika 33).

Kako u okviru kontrolne, tako i u okviru ogledne grupe zabeležena je veća masa prasadi kod jedinki iz malih legala (Tabela 56). Tako je u okviru kontrolne grupe masa na rođenju bila za oko 180 g veća kod prasadi iz malih legala u odnosu na prasad iz velikih legala, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,1757$). U okviru ogledne grupe statistički značajno veća masa na rođenju uočena je kod prasadi iz malog legla ($p=0,018$) (Slika 33). Uticaj tretmana u okviru malog legla nije bio statistički značajan ($p=0,5260$), kao takođe ni u okviru velikog legla ($p=0,2814$).

Tabela 56. Masa prasadi na rođenju u zavisnosti od tretmana i veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman	Kontrola		Tretman	
			Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	16	14	6	10	6	6
Masa prasadi, kg	1,28 \pm 0,06	1,26 \pm 0,07	1,37 \pm 0,10	1,19 \pm 0,07	1,47 \pm 0,10	1,05 \pm 0,09



Slika 33. Nivo statističke značajnosti (p) za masu prasadi u zavisnosti od tretmana i veličine legla

5.3.1.2 Morfološke osobine *m. semitendinosus-a*

Rezultati o uticaju tretiranja suprasnih krmača daidzeinom na morfološke osobine *m. semitendinosus-a*: masu mišića, dužinu mišića, obim mišića i površinu poprečnog preseka mišića kod prasadi prikazani su u Tabeli 57.

Kao što se može videti, tretman nije imao uticaj na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus-a*, o čemu svedoče i grafički prikazi znanačajnosti razlika na Slikama 34, 35, 36 i 37 (posebno za svaku osobinu). Masa mišića varirala je od 2,63 g kod ogledne do 2,77 g kod kontrolne grupe, dužina mišića bila je ujednačena kod obe grupe, oko 4,80 cm, obim mišića bio je u rasponu od 3,40 cm kod eksperimentalne do 3,53 cm kod kontrolne grupe, a površina poprečnog preseka mišića bila je $0,93 \text{ cm}^2$ kod ogledne i 1 cm^2 kod kontrolne grupe.

Tabela 57. Vrednosti morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus-a* u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman
Broj prasadi (n)	16	14
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	$2,77 \pm 0,20$	$2,63 \pm 0,22$
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	$4,81 \pm 0,12$	$4,80 \pm 0,14$
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	$3,53 \pm 0,12$	$3,40 \pm 0,14$
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm^2	$1,00 \pm 0,07$	$0,93 \pm 0,07$

Odnos između malog i velikog legla uočen za masu prasadi na rođenju, primetan je i kod morfoloških osobina mišića, gde su za sve posmatrane osobine kako u okviru

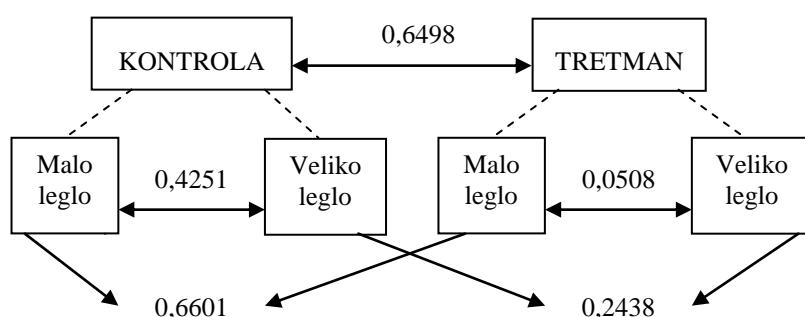
kontrolne tako i u okviru tretirane grupe, zabeležene veće vrednosti pojedinih osobina kod životinja iz manjih legala (Tabela 58). Iako je brojčana razlika u vrednostima pojedinih osobina u okviru kontrolne grupe bila uočljiva, ona nije bila statistički značajna (Slike 34, 35, 36 i 37).

Međutim, u okviru eksperimentalne grupe registrovan je statistički značajan uticaj veličine legla. Statistički značajno manja masa ($p=0,0508$) i dužina mišića ($p=0,0484$) bila je kod velikog legla u odnosu na životinje iz malog legla, dok se za obim i površinu mišića mogao konstatovati jak trend smanjenja vrednosti sa povećanjem legla (Slike 34, 35, 36 i 37).

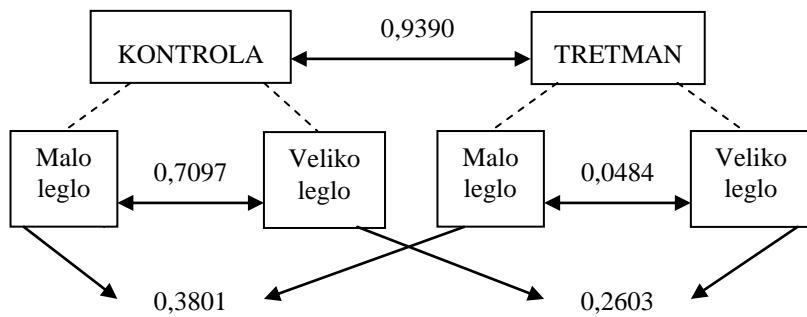
Uticaj veličine legla na morfološke osobine mišića, posmatran unutar kontrolne i ogledne grupe prasadi nije bio statistički značajan (Slike 34, 35, 36 i 37).

Tabela 58. Vrednosti morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus*-a u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

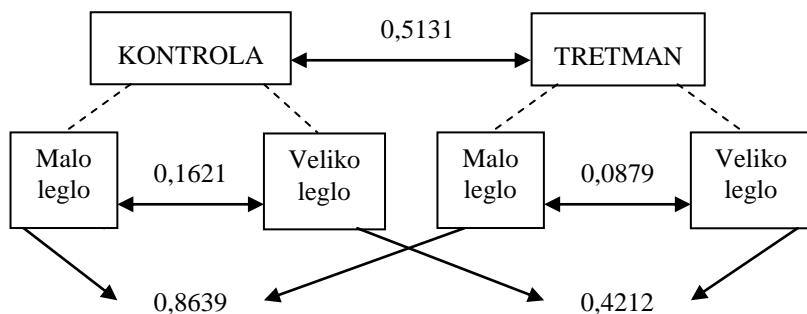
Osobina	Kontrola		Tretman	
	Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	6	6	10	8
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	2,94 \pm 0,32	2,60 \pm 0,24	3,15 \pm 0,32	2,11 \pm 0,30
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	4,86 \pm 0,20	4,77 \pm 0,15	5,13 \pm 0,20	4,48 \pm 0,19
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	3,73 \pm 0,20	3,34 \pm 0,15	3,68 \pm 0,20	3,13 \pm 0,19
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm ²	1,11 \pm 0,10	0,90 \pm 0,08	1,08 \pm 0,10	0,80 \pm 0,10



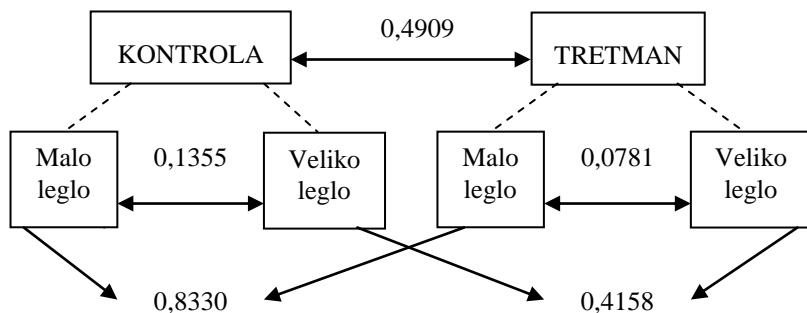
Slika 34. Nivo statističke značajnosti (p) za masu *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 35. Nivo statističke značajnosti (p) za dužinu *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 36. Nivo statističke značajnosti (p) za obim *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 37. Nivo statističke značajnosti (p) za površinu *m. semitendinosus*-a u zavisnosti od tretmana i veličine legla

5.3.1.3 Histološke osobine *m. semitendinosus*-a

Rezultati histoloških merenja broja vlakana u *m. semitendinosus*-u, u zavisnosti od dodavanja daidzeina u hranu suprasnih krmača, prikazani su u Tabeli 59. Ukupan broj

mišićnih vlakana i broj sekundarnih vlakana bili su veći kod kontrolne u odnosu na tretiranu grupu. Broj primarnih vlakana bio je veći kod eksperimentalnih životinja (Tabela 59). Iako je kod kontrolne grupe bilo za oko 50 hiljada više mišićnih vlakana u odnosu na oglednu grupu, ova razlika nije bila statistički značajna (Slika 38). Slično je i za razlike u broju primarnih i sekundarnih mišićnih vlakana (Slike 39 i 40).

Tabela 59. Ukupan broj, broj primarnih i broj sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman
Broj prasadi (n)	15	13
Ukupan broj vlakana	458267 \pm 29587	409373 \pm 32359
Broj primarnih vlakana	14496 \pm 679,09*	15435 \pm 870,41
Broj sekundarnih vlakana	442777 \pm 29077	393938 \pm 31811

*Broj ispitivane prasadi je iznosio 16

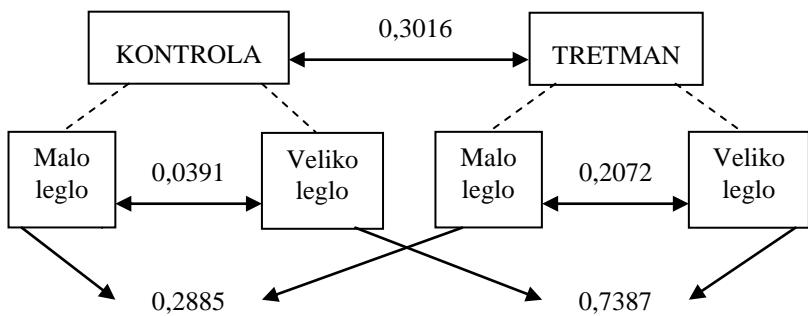
Uticaj veličine legla na ove osobine prikazan je u Tabeli 60. Za sve tri osobine broja vlakana zabeležene su znatno veće vrednosti kod malih legala u odnosu na velika legla, kako u okviru kontrolne, tako i u okviru eksperimentalne grupe životinja. Razlike u ukupnom broju, broju primarnih i broju sekundarnih vlakana između malog i velikog legla u okviru ogledne grupe nisu bile statistički značajne (Slike 38, 39 i 40).

Međutim, ukupan broj vlakana ($p=0,0391$) i broj sekundarnih vlakana ($p=0,0414$) bili su statistički značajno veći kod malih legala, dok je kod broja primarnih vlakana uočen jak trend ($p=0,0744$) povećanja sa smanjenjem veličine legla (slike 38, 39 i 40). Interakcije tretmana i veličine legla nisu bile statistički značajne za posmatrane osobine (Slike 38, 39, 40).

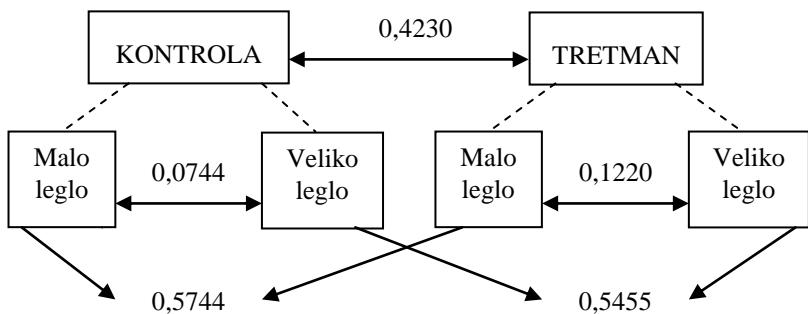
Tabela 60. Ukupan broj, broj primarnih i broj sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola		Tretman	
	Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	5	10	5	8
Ukupan broj vlakana	533189 \pm 48545	383345 \pm 33836	454342 \pm 48545	364403 \pm 42800
Broj primarnih vlakana	15919 \pm 1088,96*	13073 \pm 811,67	16966 \pm 1405,85	13904 \pm 1026,69
Broj sekundarnih vlakana	515281 \pm 47664	370272 \pm 33316	437376 \pm 47664	350499 \pm 42142

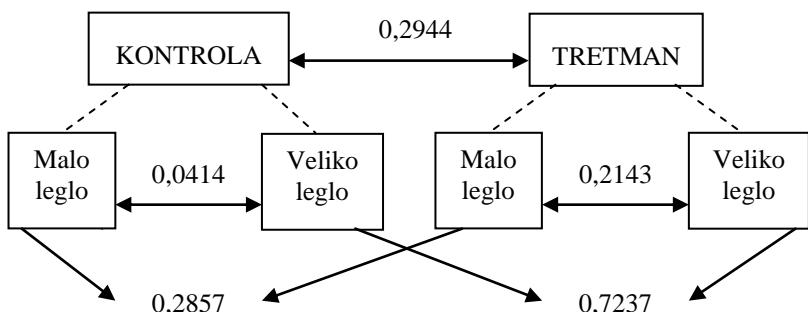
*Broj ispitivane prasadi je iznosio 6



Slika 38. Nivo statističke značajnosti (p) za ukupan broj vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 39. Nivo statističke značajnosti (p) za broj primarnih vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 40. Nivo statističke značajnosti (p) za broj sekundarnih vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla

Rezultati o strukturi *m. semitendinosus-a*, izraženi kroz procentualnu zastupljenost primarnih vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna, prikazani su u Tabeli 61. U okviru tretirane grupe zabeležen je veći procenat primarnih vlakana 3,80%, u odnosu na kontrolnu grupu gde je iznosio 3,38%, a shodno tome je i odnos sekundarna:primarna vlakna bio veći kod kontrolne (29,05) u poređenju sa eksperimentalnom grupom (25,67) (Tabela 61). Ipak, razlike u vrednostima za ove posmatrane osobine nisu bile statistički značajne (Slike 41 i 42).

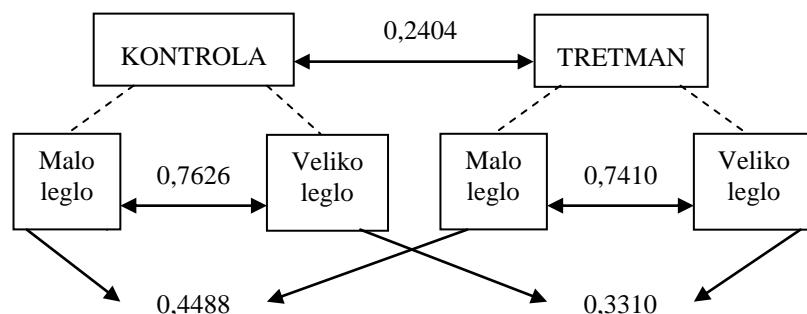
Tabela 61. Udeo pojedinih tipova vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman
Broj prasadi (n)	15	13
Primarna vlakna, %	3,38 \pm 0,22	3,80 \pm 0,24
Odnos sekundarna:primarna vlakna	29,05 \pm 1,76	25,67 \pm 1,92

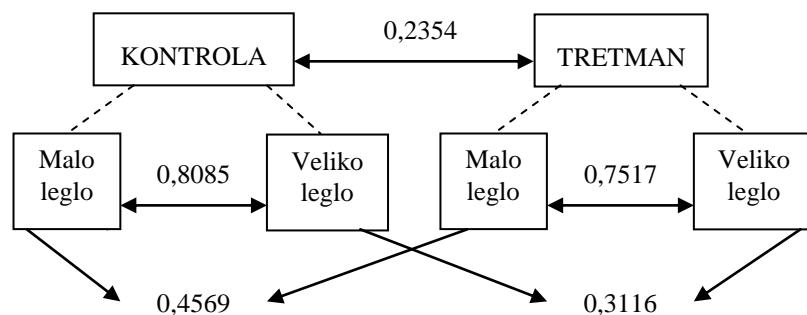
Rezultati ispitivanja uticaja veličine legla u okviru kontrole, odnosno u okviru tretmana, su pokazali da je u obe grupe veći procenat primarnih vlakana i time manji odnos sekundarna:primarna vlakna bio kod velikog legla (Tabela 62), ali razlike u vrednostima nisu bile statistički značajne (Slike 41 i 42). Takođe nije uočena statistička značajnost efekta tretmana na posmatrane osobine ni u okviru malog legla, ni u okviru velikog legla (Slike 41 i 42).

Tabela 62. Udeo pojedinih tipova vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna u *m. semitendinosus*-u u kontrolnoj i tretiranoj grupi prasadi u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola		Tretman	
	Malo leglo	Veliko leglo	Malo leglo	Veliko leglo
Broj prasadi (n)	5	10	5	8
Primarna vlakna, %	3,32 \pm 0,35	3,45 \pm 0,25	3,71 \pm 0,35	3,88 \pm 0,32
Odnos sekundarna:primarna vlakna	29,50 \pm 2,86	28,61 \pm 2,03	26,31 \pm 2,86	25,04 \pm 2,57



Slika 41. Nivo statističke značajnosti (p) za procenat primarnih vlakana u zavisnosti od tretmana i veličine legla



Slika 42. Nivo statističke značajnosti (p) za odnos sekundarna:primarna vlakna u zavisnosti od tretmana i veličine legla

5.3.2 Tovljenici

5.3.2.1 Proizvodne osobine

Rezultati proizvodnih osobina tovljenika: mase na rođenju i klanične mase, u zavisnosti od ishrane suprasnih krmača, prikazani su u Tabeli 63. Masa na rođenju bila je skoro potpuno ista kod kontrolnih i oglednih životinja i iznosila je 1,28 kg. Ni klanična masa tovljenika nije se značajno razlikovala između kontrolne grupe gde je iznosila 114,22 kg, i ogledne grupe gde je prosečno iznosila 115,70 kg.

Tabela 63. Uticaj tretmana na proizvodne osobine tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola	Tretman	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,28 \pm 0,05 (98)	1,28 \pm 0,06 (83)	0,98
Klanična masa, kg (n)	114,22 \pm 1,27 (66)	115,70 \pm 1,42 (52)	0,46

Ishrana suprasnih krmača daidzeinom nije ispoljila efekat ni posmatrano zasebno u malom, odnosno u velikom leglu. Masa jedinki na rođenju iznosila je 1,37 kg u kontrolnoj, odnosno 1,39 kg u eksperimentalnoj grupi malog legla, a u okviru velikog legla bila je nešto veća kod kontrolnih životinja 1,18 kg, u odnosu na eksperimentalne 1,16 kg (Tabela 64). Razlike u masi između kontrolne i ogledne grupe kako u okviru malog, tako i u okviru velikog legla nisu bile statistički značajne. Klanična masa tretiranih i kontrolnih životinja poreklom iz malog legla bila je gotovo identična, oko 115kg, dok je kod životinja iz velikog legla tretman uslovio blago povećanje klanične mase od 116,60 kg, u odnosu na kontrolne životinje – 113,17 kg (Tabela 64). Ova razlika u masi ipak nije bila statistički značajna.

Tabela 64. Uticaj tretmana na proizvodne osobine tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola	Tretman	p	Kontrola	Tretman	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,37 \pm 0,08 (30)	1,39 \pm 0,08 (28)	0,84	1,18 \pm 0,06 (68)	1,16 \pm 0,07 (55)	0,84
Klanična masa, kg (n)	115,27 \pm 2,00 (26)	114,81 \pm 1,97 (24)	0,87	113,17 \pm 1,55 (40)	116,60 \pm 1,92 (28)	0,21

Tretman nije ispoljio uticaj u okviru pola, pa ni kod životinja muškog pola, ni kod životinja ženskog pola, nije ustanovljena statistički značajna razlika u masi na rođenju i klaničnoj masi između kontrolnih i eksperimentalnih životinja (Tabela 65).

Tabela 65. Uticaj tretmana na proizvodne osobine tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola	Tretman	p	Kontrola	Tretman	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,30 \pm 0,06 (46)	1,26 \pm 0,07 (41)	0,67	1,25 \pm 0,05 (52)	1,29 \pm 0,06 (42)	0,60
Klanična masa, kg (n)	118,35 \pm 1,57 (28)	119,82 \pm 1,92 (25)	0,55	110,09 \pm 1,45 (38)	111,59 \pm 1,65 (27)	0,49

Polazeći od činjenice da tretman nije imao značajan uticaj na masu na rođenju i klaničnu masu, sve životinje, bez obzira na pol, podvrgnute su analizi uticaja veličine legla. Rezultati su prikazani u Tabeli 66. Ova analiza pokazala je da veličina legla ima značajan uticaj na ove dve osobine. Statistički značajno ($p=0,02$) manja masa na rođenju izmerena je kod životinja iz velikog legla (1,17 kg) u odnosu na životinje iz malog legla (1,38 kg) (Tabela 66). Ustanovljena razlika kod klanične mase između jedinki iz legala različite veličine nije bila statistički značajna.

Tabela 66. Uticaj veličine legla na proizvodne osobine tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo	Veliko leglo	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,38 \pm 0,06 (58)	1,17 \pm 0,05 (123)	0,02
Klanična masa, kg (n)	115,04 \pm 1,40 (50)	114,88 \pm 1,24 (68)	0,94

Uticaj pola na proizvodne osobine bio je upravo suprotan: kod prasadi muškog i ženskog pola nije bilo razlike u masi na rođenju, ali je razlika u klaničnoj masi tovljenika različitog pola bila veoma visoko statistički značajna ($p<0,0001$), pri čemu je bila veća kod mužjaka i iznosila 119,08 kg, u odnosu na životinje ženskog pola kod kojih je iznosila 110,84 kg (Tabela 67).

Tabela 67. Uticaj pola na proizvodne osobine tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol	Ženski pol	p
Masa na rođenju, kg (n)	1,28 \pm 0,05 (87)	1,27 \pm 0,04 (94)	0,82
Klanična masa, kg (n)	119,08 \pm 1,24 (53)	110,84 \pm 1,10 (65)	<0,0001

5.3.2.2 Morfološke osobine *m. semitendinosus-a*

Rezultati ispitivanja uticaja dodavanja daidzeina suprasnim krmačama na masu, dužinu, obim i površinu poprečnog preseka mišića dati su u Tabeli 68. Jedino je masa mišića bila za nekih 10 g veća kod tretiranih životinja u odnosu na jedinke iz kontrolne grupe,

ali ova razlika nije bila statistički značajna. Dužina mišića bila je gotovo ista kod kontrolne i ogledne grupe, oko 22,5 cm; takođe je i obim mišića bio približno jednak kod obe grupe, oko 19,5 cm; a površina mišića varirala je od $30,59 \text{ cm}^2$ kod kontrolne, do $31,16 \text{ cm}^2$ kod eksperimentalne grupe životinja (Tabela 68). Razlike u vrednostima za pojedine osobine između kontrolne i tretirane grupe životinja nisu bile statistički značajne.

Tabela 68. Uticaj tretmana na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=66)	Tretman (n=52)	p
Masa mišića, g	$439,25 \pm 8,91$	$450,34 \pm 10,01$	0,44
Dužina mišića, cm	$22,44 \pm 0,22$	$22,53 \pm 0,24$	0,80
Obim mišića, cm	$19,53 \pm 0,31$	$19,74 \pm 0,35$	0,66
Površina poprečnog preseka mišića, cm^2	$30,59 \pm 1,00$	$31,16 \pm 1,12$	0,71

Tretman nije imao značajne efekte kako u okviru malog, tako ni u okviru velikog legla. Za sve posmatrane osobine nije bilo statistički značajnih razlika između kontrolnih i eksperimentalnih životinja (Tabela 69). Masa mišića je bila brojčano nešto veća kod tretiranih životinja iz velikog legla 456,53 g, u odnosu na sve ostale grupe gde je bila ujednačena oko 440g; dužina mišića bila je oko 22,5 cm, a obim oko 19,5 cm kod svih grupa, dok je površina poprečnog preseka mišića iznosila oko $30,5 \text{ cm}^2$ i kod kontrolne i kod eksperimentalne grupe, kako u malom, tako i u velikom leglu.

Tabela 69. Uticaj tretmana na morfološke osobine mišića tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=26)	Tretman (n=24)	p	Kontrola (n=40)	Tretman (n=28)	p
Težina mišića, g	$439,82 \pm 14,06$	$444,15 \pm 13,85$	0,83	$438,69 \pm 10,89$	$456,53 \pm 13,51$	0,34
Dužina mišića, cm	$22,62 \pm 0,34$	$22,43 \pm 0,33$	0,69	$22,27 \pm 0,26$	$22,63 \pm 0,33$	0,41
Obim mišića, cm	$19,41 \pm 0,49$	$19,69 \pm 0,49$	0,69	$19,65 \pm 0,38$	$19,79 \pm 0,47$	0,83
Površina poprečnog preseka mišića, cm^2	$30,31 \pm 1,58$	$30,99 \pm 1,56$	0,77	$30,86 \pm 1,22$	$31,34 \pm 1,52$	0,81

Ujednačene vrednosti za posmatrane osobine zabeležene su i kod kontrolnih i eksperimentalnih životinja u okviru muškog i ženskog pola. Unutar polova tretman nije ispoljio značajan uticaj. Tako ni kod mužjaka, ni kod ženki nisu uočene statistički značajne razlike u težini, dužini, obimu i površini poprečnog preseka mišića između kontrolne i ogledne grupe životinja (Tabela 70).

Tabela 70. Uticaj tretmana na morfološke osobine mišića tovljenika u zavisnosti od pola, LSM ± SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=28)	Tretman (n=25)	p	Kontrola (n=38)	Tretman (n=27)	p
Težina mišića, g	427,42±11,01	451,15±13,48	0,18	451,08±10,18	449,52±11,58	0,92
Dužina mišića, cm	22,16±0,27	22,39±0,34	0,60	22,73±0,25	22,68±0,29	0,89
Obim mišića, cm	19,11±0,37	19,59±0,45	0,42	19,95±0,35	19,90±0,40	0,93
Površina poprečnog preseka mišića, cm ²	29,26±1,20	30,67±1,45	0,46	31,91±1,12	31,66±1,27	0,88

Polazeći od činjenice da tretman nije imao efekat na morfološke osobine mišića, sve životinje grupisane su prema pripadnosti malom odnosno velikom leglu, a bez obzira na pol i tretman. Rezultati su prikazani u Tabeli 71. Ovom analizom utvrđeno je da veličina legla novorođene prasadi, kao faktor, nije imala uticaja na masu, dužinu, obim i površinu poprečnog preseka mišića kod tovljenika i da su sve osobine imale skoro iste vrednosti kod jedinki iz malog i kod jedinki iz velikog legla: težina mišića bila je oko 442 g kod životinja iz malog i oko 447 g kod životinja iz velikog legla; dužina mišića u oba legla bila je oko 22,5 cm, obim mišića oko 19,5 cm, a površina poprečnog preseka mišića oko 31 cm² i kod malog i kod velikog legla, te nije bilo statistički značajnih razlika između legala različite veličine (Tabela 71).

Tabela 71. Uticaj veličine legla na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Malo leglo (n=50)	Veliko leglo (n=68)	p
Težina mišića, g	441,98±9,87	447,61±8,68	0,68
Dužina mišića, cm	22,52±0,24	22,45±0,21	0,82
Obim mišića, cm	19,55±0,35	19,72±0,30	0,72
Površina poprečnog preseka mišića, cm ²	30,65±1,11	31,10±0,97	0,76

Međutim, ispitivanje uticaja pola kao faktora na morfološke osobine mišića pokazalo je da osim mase mišića gde nije bilo statistički značajne razlike između jedinki muškog (439,29 g) i ženskog pola (450,30 g), za sve ostale osobine – dužinu (p=0,08), obim (p=0,06) i površinu poprečnog preseka mišića (p=0,06) postojala je jaka tendencija povećanja vrednosti kod jedinki ženskog pola (Tabela 72).

Tabela 72. Uticaj pola na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Muški pol (n=53)	Ženski pol (n=65)	p
Težina mišića, g	439,29±8,70	450,30±7,71	0,25
Dužina mišića, cm	22,27±0,22	22,70±0,19	0,08
Obim mišića, cm	19,35±0,29	19,92±0,26	0,06
Površina poprečnog preseka mišića, cm ²	29,96±0,94	31,79±0,85	0,06

5.3.2.3 Histološke osobine *m. semitendinosus-a*

Rezultati histoloških merenja broja mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića *m. semitendinosus*, kod tovljenika, u zavisnosti od ishrane suprasnih krmača dodatkom daidzeina, prikazani su u Tabeli 73.

Ukupan broj mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića bio je manji kod ogledne u odnosu na kontrolnu grupu životinja i kretao se od 996.788 kod oglednih životinja do 1.013.157 kod kontrolnih jedinki, a broj vlakana na 1cm^2 površine mišića varirao je od 30.492 kod tretiranih do 30.585 kod kontrolnih životinja (Tabela 73). Statistički efekat tretmana na ove osobine nije potvrđen, obzirom da razlike u vrednostima između dve posmatrane grupe nisu bile statistički značajne (Tabela 73).

Tabela 73. Uticaj tretmana na broj mišićnih vlakana tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=27)	Tretman (n=23)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	1013157 \pm 43106	996788 \pm 54557	0,83
Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića	30585 \pm 1403,78	30492 \pm 1750,59	0,97

Rezultati ispitivanja uticaja tretmana, u okviru zasebno malog odnosno velikog legla, prikazani su u Tabeli 74. Može se uočiti razlika u ukupnom broju vlakana između kontrolne i ogledne grupe i kod malog, i kod velikog legla. Kod malog legla tretirana grupa životinja imala je za oko 57.000 veći broj vlakana u odnosu na kontrolnu, dok je kod velikog legla broj vlakana kod tretiranih životinja bio manji za oko 90.000 nego kod jedinki iz kontrolne grupe, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 74).

Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića kretao se u istom pravcu, i bio veći kod tretiranih (31.210) u odnosu na kontrolne životinje (28.472) u okviru malog legla, a u velikom leglu bio je veći kod kontrolnih (32.698) nego kod eksperimentalnih životinja (29.773) (Tabela 74). Ipak, ni za ovu osobinu nisu zabeležene statistički značajne razlike u vrednostima između pojedinih grupa.

Tabela 74. Uticaj tretmana na broj mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=16)	Tretman (n=13)	p	Kontrola (n=11)	Tretman (n=10)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	942328 \pm 55902	999752 \pm 66141	0,55	1083986 \pm 64659	993824 \pm 75082	0,43
Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića	28472 \pm 1869,87	31210 \pm 2080,23	0,40	32698 \pm 2067,75	29773 \pm 2578,41	0,44

Ukoliko se uticaj tretmana ispituje u okviru svakog pola zasebno, može se uočiti da su tretirane životinje muškog pola imale za skoro 90.000 veći ukupan broj vlakana na poprečnom preseku i za oko 4.000 veći broj vlakana na 1cm^2 površine mišića u odnosu na kontrolne životinje, ali ove razlike u broju vlakana nisu bile statistički značajne (tabela 75).

Suprotno, kod ženki je uočena tendencija smanjenja broja vlakana kod tretiranih životinja, obzirom da je u tretiranoj grupi životinja ukupan broj vlakana na poprečnom preseku bio za oko 122.000 manji nego kod kontrolnih, dok je broj vlakana na 1cm^2 površine mišića bio manji za oko 4.000 (tabela 75).

Tabela 75. Uticaj tretmana na broj mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=10)	Tretman (n=5)	p	Kontrola (n=17)	Tretman (n=18)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	1035388 \pm 67691	1124655 \pm 96152	0,45	990926 \pm 53391	868921 \pm 50701	0,11
Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića	30629 \pm 1965,76	34546 \pm 2762,69	0,25	30542 \pm 1622,02	26437 \pm 1694,21	0,09

Pošto nije uočen efekat tretmana na broj vlakana na poprečnom preseku i broj vlakana na 1cm^2 površine mišića, životinje su grupisane prema pripadnosti malom odnosno velikom leglu, bez obzira na pol i tretman, i izvršena analiza uticaja veličine legla kao faktora na ove osobine. Rezultati su pokazali da iako između malog i velikog legla postoje numeričke razlike u prosečnim vrednostima za obe posmatrane osobine, ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 76).

Tabela 76. Uticaj veličine legla na broj mišićnih vlakana tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=29)	Veliko leglo (n=21)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	971040 \pm 43300,00	1038905 \pm 49543,00	0,35
Broj vlakana na 1cm^2 površine mišića	29841 \pm 1398,55	31236 \pm 1652,56	0,55

Međutim, poređenje prema polu kao jedinom faktoru, bez obzira na veličinu legla i tretman, pokazalo je statistički značajne razlike između mužjaka i ženki, gde je ukupan broj vlakana na poprečnom preseku kod mužjaka bio za 150.000, a broj vlakana na 1cm^2 površine mišića za oko 4.000 veći nego kod ženki (Tabela 77). Nivoi značajnosti

razlika za ova dva obeležja između dve posmatrane grupe jedinki prikazani su u Tabeli 77.

Tabela 77. Uticaj pola na broj mišićnih vlakana tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=35)	p
Ukupan broj vlakana na poprečnom preseku	1080022±58795,00	929923±36814,00	0,04
Broj vlakana na 1cm ² površine mišića	32588±1695,34	28489±1172,74	0,03

Rezultati merenja površine različitih tipova vlakana prikazani su u tabeli 78. Može se uočiti neznatno veća površina STO, FTO i prosečna površina vlakna kod tretiranih životinja u odnosu na netretirane, dok je površina FTG vlakna bila manja kod tretiranih jedinki u poređenju sa kontrolnim životnjama. Ipak, zabeležene razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 78).

Tabela 78. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Kontrola (n=29)	Tretman (n=23)	p
Površina STO vlakna	3785,88±223,88	3853,48±281,45	0,64
Površina FTO vlakna	3256,22±188,13	3493,10±238,38	0,49
Površina FTG vlakna	3357,31±178,56	3329,42±226,69	0,93
Prosečna površina vlakna	3398,73±180,58	3437,20±227,91	0,90

Tretman nije imao efekata ni u okviru pojedinačno posmatranog malog, odnosno velikog legla (Tabela 79). Međutim, iako razlike u posmatranim osobinama nisu bile statistički značajne, u Tabeli 79 može se videti da su eksperimentalne životinje iz malog legla imale brojčano manje prosečne vrednosti za površine svih tipova vlakana pojedinačno, dok su, obrnuto, u velikom leglu zabeležene veće vrednosti za površine svih tipova vlakana kod tretiranih životinja.

Tabela 79. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM ± SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=18)	Tretman (n=13)	p	Kontrola (n=11)	Tretman (n=10)	p
Površina STO vlakna	4103,61±297,90	3712,65±331,62	0,45	3468,16±331,23	3994,31±426,45	0,40
Površina FTO vlakna	3608,06±246,49	3513,36±282,71	0,82	2904,38±281,33	3472,83±353,42	0,30
Površina FTG vlakna	3548,87±233,10	3201,26±269,28	0,40	3165,74±267,68	3457,58±334,32	0,54
Prosečna površina vlakna	3645,75±238,40	3344,76±269,42	0,46	3151,72±268,64	3529,64±341,58	0,45

Slični odnosi uočavaju se i pri ispitivanju uticaja tretmana u okviru zasebno muških, a zasebno ženskih životinja. Kod mužjaka su površine svih tipova vlakana bile manje kod tretiranih životinja, mada razlike u srednjim vrednostima nisu bile statistički značajne (Tabela 80). Suprotno mužjacima, kod ženki su upravo tretirane životinje imale sve tipove vlakana veće površine u odnosu na kontrolne, pri čemu je razlika u površini FTO vlakana bila statistički značajna ($p=0,03$), dok razlike između vrednosti površine STO, FTG i prosečne površine vlakna nisu bile statistički značajne (Tabela 80).

Tabela 80. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=11)	Tretman (n=5)	p	Kontrola (n=18)	Tretman (n=18)	p
Površina STO vlakna	3853,38 \pm 289,63	3493,99 \pm 414,30	0,48	3718,39 \pm 249,85	4212,97 \pm 276,15	0,19
Površina FTO vlakna	3277,07 \pm 255,62	3052,82 \pm 370,80	0,62	3235,37 \pm 215,89	3933,38 \pm 231,49	0,03
Površina FTG vlakna	3297,25 \pm 245,27	2842,05 \pm 356,77	0,30	3417,36 \pm 206,25	3816,78 \pm 219,54	0,19
Prosečna površina vlakna	3372,65 \pm 239,66	2969,94 \pm 345,46	0,34	3424,82 \pm 204,41	3904,46 \pm 222,51	0,12

Rezultati analize uticaja veličine legla na površinu pojedinih tipova vlakana, bez obzira na pol životinja i tretman, prikazani su u Tabeli 81. Može se uočiti da su površine svih tipova vlakana bile veće kod životinja iz malog legla: površina STO vlakna bila je veća za oko $170 \mu\text{m}^2$, površina FTO vlakna za oko $370 \mu\text{m}^2$, površina FTG vlakna za oko $65 \mu\text{m}^2$ veća u odnosu na veliko leglo, a time je i prosečna površina vlakna kod životinja iz malog legla bila veća u odnosu na eksperimentalne jedinke, i to za oko $155 \mu\text{m}^2$. Uticaj legla kao faktora nije potvrđen jer ove razlike nisu bile statistički značajne ni za jednu posmatranu osobinu (Tabela 81).

Tabela 81. Uticaj veličine legla na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=31)	Veliko leglo (n=21)	p
Površina STO vlakna	3908,13 \pm 222,89	3731,23 \pm 269,99	0,64
Površina FTO vlakna	3560,71 \pm 187,54	3188,61 \pm 225,86	0,28
Površina FTG vlakna	3375,06 \pm 178,08	3311,66 \pm 214,14	0,83
Prosečna površina vlakna	3495,26 \pm 179,88	3340,68 \pm 217,28	0,61

Kao i kod morfoloških osobina mišića (Tabela 72) i broja vlakana u okviru mišića (Tabela 77), tako je i kod površina pojedinih tipova vlakana uočen uticaj pola na ove osobine (Tabela 82). Površina STO, FTO i FTG vlakana i prosečna površina vlakna bile

su veće kod jedinki ženskog pola. Površina STO vlakna bila je za oko $300 \mu\text{m}^2$ veća kod ženki u odnosu na mužjake, ali ova razlika nije bila statistički značajna, za površinu FTO vlakna uočena je tendencija ($p=0,09$) povećanja kod ženki, dok su površina FTG vlakna ($p=0,03$) i prosečna površina vlakna ($p=0,03$) bile statistički značajno veće kod životinja ženskog pola u odnosu na mužjake (Tabela 82).

Tabela 82. Uticaj pola na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovlenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol (n=16)	Ženski pol (n=36)	p
Površina STO vlakna	$3673,69 \pm 252,75$	$3965,68 \pm 186,20$	0,27
Površina FTO vlakna	$3164,94 \pm 225,19$	$3584,37 \pm 158,27$	0,09
Površina FTG vlakna	$3069,65 \pm 216,47$	$3617,07 \pm 150,61$	0,03
Prosečna površina vlakna	$3171,30 \pm 210,23$	$3664,64 \pm 151,07$	0,03

Uticaj tretmana na procentualnu zastupljenost pojedinih tipova vlakana u ukupnom broju prikazan je u Tabeli 83. Učešće STO vlakana u ukupnom broju vlakana kod kontrolnih životinja bilo je 17,81%, a kod eksperimentalnih 16,20%, a razlika između ove dve vrednosti nije bila statistički značajna.

Procenat FTO vlakana bio je statistički značajno manji ($p=0,05$) kod tretiranih životinja (17,23%) u odnosu na kontrolne (20,71%), dok se na račun smanjenja procenta STO i FTO vlakana kod eksperimentalne grupe značajno povećao ($p=0,05$) procenat FTG vlakana (66,54%) u odnosu na kontrolnu grupu gde je zabeleženo 61,44% (Tabela 83).

Tabela 83. Uticaj tretmana na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovlenika, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=29)	Tretman (n=23)	p
STO vlakna, %	$17,81 \pm 0,64$	$16,20 \pm 0,82$	0,22
FTO vlakna, %	$20,71 \pm 0,65$	$17,23 \pm 0,85$	0,05
FTG vlakna, %	$61,44 \pm 0,94$	$66,54 \pm 1,22$	0,05

Sličan efekat tretmana primetan je i ako se posmatra zasebno malo, a zasebno veliko leglo. Ni kod malog, ni kod velikog legla, procenat STO vlakana nije bio značajno promenjen pod dejstvom tretmana kod eksperimentalne grupe u odnosu na kontrolnu, mada su nešto niže vrednosti zabeležene kod tretiranih životinja (Tabela 84). Procenat FTO vlakana je i kod malog, i kod velikog legla imao tendenciju smanjenja kod tretiranih životinja, tako da je kod malog legla zabeleženo 21,06% FTO vlakana kod

kontrolnih i 17,60% FTO vlakana kod tretiranih životinja, dok je u okviru velikog legla učešće FTO vlakana kod kontrole bilo 20,36% a kod ogledne grupe 16,87% (Tabela 84).

Procenat FTG vlakana bio je povećan kod tretiranih jedinki, s tim što zabeleženo povećanje od oko 3,5% u okviru malog legla nije bilo statistički značajno, dok je u okviru velikog legla uočena jaka tendencija ($p=0,06$) ka povećanju učešća FTG vlakana kod ogledne grupe (67,96%) u odnosu na kontrolnu grupu (61,28%) (Tabela 84).

Tabela 84. Uticaj tretmana na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=18)	Tretman (n=13)	p	Kontrola (n=11)	Tretman (n=10)	p
STO vlakna, %	17,34 \pm 0,81	17,29 \pm 0,98	0,97	18,28 \pm 0,97	15,11 \pm 1,17	0,13
FTO vlakna, %	21,06 \pm 0,81	17,60 \pm 1,03	0,08	20,36 \pm 1,01	16,87 \pm 1,17	0,11
FTG vlakna, %	61,60 \pm 1,17	65,11 \pm 1,48	0,16	61,28 \pm 1,44	67,96 \pm 1,68	0,06

Ispitivanje uticaja tretmana u okviru zasebno muškog, i zasebno ženskog pola, pokazalo je značajne efekte ove interakcije na procentualnu zastupljenost pojedinih tipova vlakana (Tabela 85). Jedino procenat STO vlakana kod mužjaka nije bio značajno promenjen pod uticajem tretmana. Kod ženki je uočena jaka tendencija ($p=0,07$) smanjenja učešća STO vlakana kod tretiranih (16,73%) u odnosu na netretirane jedinke (18,78).

Procenat FTO vlakana bio je 20,15% kod mužjaka iz kontrolne grupe, i statistički veoma značajno niži ($p=0,01$) kod tretiranih muških životinja gde je iznosio 15,41%. Kod ženki je tretman ispoljio jaku tendenciju ($p=0,06$) smanjenja procentualnog učešća FTO vlakana u ukupnom broju vlakana.

Procenat FTG vlakana bio je pod uticajem tretmana značajno povećan ($p=0,03$) kod mužjaka, i veoma značajno povećan ($p=0,01$) kod ženki. Kod životinja oba pola je učešće FTG vlakana bilo za oko 5% veće kod tretiranih u odnosu na netretirane životinje (Tabela 85).

Tabela 85. Uticaj tretmana na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=11)	Tretman (n=5)	p	Kontrola (n=18)	Tretman (n=18)	p
STO vlakna, %	16,84 \pm 0,93	15,66 \pm 1,36	0,48	18,78 \pm 0,76	16,73 \pm 0,78	0,07
FTO vlakna, %	20,15 \pm 1,01	15,41 \pm 1,50	0,01	21,27 \pm 0,81	19,06 \pm 0,79	0,06
FTG vlakna, %	63,07 \pm 1,44	68,80 \pm 2,15	0,03	59,81 \pm 1,17	64,27 \pm 1,13	0,01

Rezultati ispitivanja samo uticaja veličine legla na ove osobine strukture mišića prikazani su u Tabeli 86. Veličina legla kao jedini ispitivani faktor, bez obzira na pol i pripadnost životinja kontrolnoj ili tretiranoj grupi, nije imala značajan uticaj na procentualno učešće pojedinih tipova vlakana u ukupnom broju. Procenat STO vlakana kretao se oko 17% kod oba legla, procenat FTO vlakana iznosio je oko 19%, a procenat FTG vlakana oko 64% (Tabela 86).

Tabela 86. Uticaj veličine legla na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=31)	Veliko leglo (n=21)	p
STO vlakna, %	17,32 \pm 0,64	16,69 \pm 0,76	0,55
FTO vlakna, %	19,33 \pm 0,66	18,62 \pm 0,77	0,51
FTG vlakna, %	63,36 \pm 0,94	64,62 \pm 1,11	0,42

Rezultati ispitivanja samo uticaja pola na ove sobine strukture mišića prikazani su u Tabeli 87. Ispitivanje uticaja pola kao jedinog faktora, bez obzira na veličinu legla iz kog su životinje potekle, i pripadnost kontrolnoj ili oglednoj grupi, pokazalo je veoma značajne efekte ovog faktora na posmatrane osobine.

Najjači uticaj pol je ispoljio na procenat FTG vlakana, koji je kod mužjaka iznosio 65,94% a kod ženki 62,04%, a razlika u dobijenim vrednostima bila je veoma statistički značajna ($p=0,01$) (Tabela 87). Procentualna zastupljenost FTO vlakana bila je veća kod ženki (20,17%) u odnosu na mužjake (17,78%), što je takođe bila statistički značajna razlika ($p=0,03$). Procentualna zastupljenost STO vlakana bila je nešto veća kod jedinki ženskog pola (17,76%) u odnosu na mužjake (16,25%), ali ova razlika nije bila statistički značajna (Tabela 87).

Tabela 87. Uticaj pola na zastupljenost pojedinih tipova mišićnih vlakana na poprečnom preseku mišića tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Muški pol (n=16)	Ženski pol (n=29)	p
STO vlakna, %	16,25±0,82	17,76±0,54	0,12
FTO vlakna, %	17,78±0,90	20,17±0,57	0,03
FTG vlakna, %	65,94±1,29	62,04±0,81	0,01

Rezultati ispitivanja uticaja tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima vlakana i prosečnom broju jedara po jednom vlaknu prikazani su u Tabeli 88. Sva posmatrana obeležja bila su veoma ujednačena kod kontrolne i eksperimentalne grupe, tako da je broj jedara po STO vlaknu varirao od 1,86 kod kontrole, do 1,90 kod ogledne grupe, broj jedara po FTO vlaknu kretao se od 1,53 kod kontrolnih do 1,60 kod oglednih životinja, broj jedara po FTG vlaknu bio je 1,52 kod kontrole i 1,50 kod ogledne grupe, dok je prosečan broj jedara po jednom vlaknu bio gotovo identičan kod obe grupe (Tabela 88). Razlike u prosečnim vrednostima između kontrolne i ogledne grupe za sve posmatrane osobine nisu bile statistički značajne.

Tabela 88. Uticaj tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika, LSM ± SE

Osobina	Kontrola (n=25)	Tretman (n=22)	p
Broj jedara po STO vlakanu	1,86±0,12	1,90±0,14	0,86
Broj jedara po FTO vlakanu	1,53±0,06	1,60±0,07	0,49
Broj jedara po FTG vlakanu	1,52±0,05	1,50±0,06	0,86
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,57±0,04	1,58±0,05	0,93

Nisu uočene statistički značajne razlike kod tretiranih životinja u odnosu na kontrolne, ni u okviru pojedinačno ispitivanog malog legla, ni u okviru velikog legla (Tabela 89). Osim broja jedara po jednom STO vlaknu, koji je kod malog legla bio brojčano niži kod tretiranih životinja (1,85) u odnosu na kontrolne (1,96), ostale osobine imale su gotovo identične vrednosti kod obe posmatrane grupe. Kod životinja iz velikog legla, tretirane životinje su imale numerički veći broj jedara po jednom STO (1,95) i po jednom FTO vlaknu (1,59) u odnosu na kontrolne (1,76 i 1,46, pojedinačno), ali ni ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 89).

Tabela 89. Uticaj tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=15)	Tretman (n=12)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=10)	p
Broj jedara po STO vlakanu	1,96 \pm 0,15	1,85 \pm 0,17	0,65	1,76 \pm 0,17	1,95 \pm 0,21	0,55
Broj jedara po FTO vlakanu	1,59 \pm 0,07	1,61 \pm 0,08	0,88	1,46 \pm 0,88	1,59 \pm 0,10	0,41
Broj jedara po FTG vlakanu	1,55 \pm 0,06	1,57 \pm 0,07	0,81	1,49 \pm 0,07	1,44 \pm 0,08	0,86
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,61 \pm 0,06*	1,63 \pm 0,07	0,90	1,54 \pm 0,07	1,54 \pm 0,07	0,99

*broj životinja n=14

Uticaj tretmana kod muških i kod ženskih jedinki bio je različit. Kod životinja muškog pola, tretman je uslovio smanjenje broja jedara po svim tipovima vlakana, a time i prosečan broj jedara po jednom vlaknu, mada zabeležene razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 90).

Kod ženskih životinja uočen je suprotan efekat tretmana, koji je uslovio povećanje broja jedara po jednom STO vlaknu sa 1,85 kod kontrolne na 2,03 kod ogledne grupe; broj jedara po FTO vlaknu povećao se sa 1,50 kod kontrolnih na 1,70 kod eksperimentalnih životinja; broj jedara po FTG vlaknu bio je 1,52 kod kontrole i 1,61 kod eksperimentalne grupe; a prosečan broj jedara po jednom vlaknu zabeležen kod kontrolnih jedinki bio je 1,56, a kod oglednih 1,69 (Tabela 90).

Između tretiranih i netretiranih životinja ženskog pola statistički značajna razlika zabeležena je u broju jedara po jednom FTO vlaknu ($p=0,04$), što je uticalo i na tendenciju ($p=0,11$) povećanja prosečnog broja jedara po jednom vlaknu pod uticajem tretmana (Tabela 90).

Tabela 90. Uticaj tretmana na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=10)	Tretman (n=5)	p	Kontrola (n=15)	Tretman (n=17)	p
Broj jedara po STO vlaknu	1,87 \pm 0,15	1,76 \pm 0,21	0,67	1,85 \pm 0,13	2,03 \pm 0,14	0,35
Broj jedara po FTO vlaknu	1,55 \pm 0,08	1,49 \pm 0,11	0,67	1,50 \pm 0,07	1,70 \pm 0,07	0,04
Broj jedara po FTG vlaknu	1,52 \pm 0,07	1,40 \pm 0,10	0,37	1,52 \pm 0,06	1,61 \pm 0,05	0,30
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,59 \pm 0,07	1,47 \pm 0,10	0,34	1,56 \pm 0,06*	1,69 \pm 0,05	0,11

* broj životinja n=14

Veličina legla kao jedini ispitivani faktor, bez obzira na pol životinja i pripadnost kontrolnoj ili oglednoj grupi, nije imala statistički značajan uticaj na posmatrane osobine (Tabela 91), mada se kod životinja iz velikog legla mogla uočiti brojčano manja prosečna vrednost svih posmatranih obeležja u odnosu na jedinke poreklom iz malih legala.

Tabela 91. Uticaj veličine legla na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=27)	Veliko leglo (n=20)	p
Broj jedara po STO vlaknu	1,90 \pm 0,11	1,85 \pm 0,14	0,78
Broj jedara po FTO vlaknu	1,60 \pm 0,05	1,53 \pm 0,06	0,44
Broj jedara po FTG vlaknu	1,56 \pm 0,05	1,46 \pm 0,05	0,25
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,62 \pm 0,04*	1,54 \pm 0,05	0,27

*broj životinja n=26

Takođe nije bilo statistički značajnih razlika u broju jedara po pojedinim tipovima vlakana i prosečnom broju jedara po jednom vlaknu, između životinja različitog pola (Tabela 92). Ipak, za sve posmatrane osobine primetne su brojčano veće vrednosti kod životinja ženskog pola (Tabela 92).

Tabela 92. Uticaj pola na broj jedara po pojedinim tipovima mišićnih vlakana tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=32)	p
Broj jedara po STO vlaknu	1,82 \pm 0,13	1,94 \pm 0,10	0,38
Broj jedara po FTO vlaknu	1,52 \pm 0,07	1,60 \pm 0,05	0,29
Broj jedara po FTG vlaknu	1,46 \pm 0,06	1,56 \pm 0,04	0,16
Prosečan broj jedara po vlaknu	1,53 \pm 0,06	1,63 \pm 0,04*	0,16

*broj životinja n=31

Površine STO, FTO i FTG vlakana i prosečna površina vlakna po jednom jedru nisu se značajno menjale pod uticajem tretmana, iako se mogu uočiti nešto niže vrednosti za sve posmatrane osobine kod tretiranih u odnosu na kontrolne životinje (Tabela 93).

Tabela 93. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola (n=25)	Tretman (n=22)	p
Površina STO vlakna po jedru	500,68 \pm 15,42	495,67 \pm 18,96	0,85
Površina FTO vlakna po jedru	490,60 \pm 17	467,61 \pm 20,89	0,46
Površina FTG vlakna po jedru	472,60 \pm 16,71	467,26 \pm 20,53	0,85
Prosečna površina vlakna po jedru	481,54 \pm 15,10	472,10 \pm 18,51	0,72

Rezultati ispitivanja uticaja tretmana na površine pojedinih tipova vlakana i prosečnu površinu vlakna po jednom jedru, posmatrano zasebno u okviru malog, i zasebno u okviru velikog legla prikazani su u Tabeli 94. U malom leglu, primetne su nešto veće vrednosti svih obeležja kod tretiranih u odnosu na kontrolne životinje, ali ove razlike u prosečnim vrednostima između dve grupe nisu bile statistički značajne. U okviru velikog legla, životinje iz tretirane grupe imale su brojčano manje vrednosti svih posmatranih osobina u poređenju sa kontrolnim jedinkama, ali ove razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 94).

Tabela 94. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo			Veliko leglo		
	Kontrola (n=15)	Tretman (n=12)	p	Kontrola (n=10)	Tretman (n=10)	p
Površina STO vlakna po jedru	481,03 \pm 19,37	502,11 \pm 23,38	0,54	520,33 \pm 23,62	489,23 \pm 26,02	0,44
Površina FTO vlakna po jedru	464,25 \pm 21,35	469,69 \pm 25,77	0,88	516,95 \pm 26,04	465,53 \pm 28,68	0,28
Površina FTG vlakna po jedru	454,77 \pm 20,98	510,28 \pm 25,32	0,19	490,43 \pm 25,59	424,24 \pm 28,19	0,18
Prosečna površina vlakna po jedru	460,92 \pm 18,91	501,86 \pm 22,82	0,26	502,16 \pm 23,06	442,33 \pm 25,40	0,18

Ukoliko se uticaj tretmana na površine pojedinih tipova vlakana i prosečnu površinu vlakna po jednom jedru posmatra u okviru svakog od polova, mogu se uočiti relativno mala variranja u prosečnim vrednostima pojedinih osobina između kontrolne i eksperimentalne grupe životinja, kako kod mužjaka, tako i kod ženki (Tabela 95), pa ni kod jedne od osobina nisu zabeležene statistički značajne razlike između posmatranih grupa.

Tabela 95. Uticaj tretmana na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru u zavisnosti od pola, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol			Ženski pol		
	Kontrola (n=10)	Tretman (n=5)	p	Kontrola (n=15)	Tretman (n=17)	p
Površina STO vlakna po jedru	508,83 \pm 23,62	506,71 \pm 33,29	0,96	492,53 \pm 19,37	484,62 \pm 17,99	0,77
Površina FTO vlakna po jedru	498,87 \pm 26,04	488,98 \pm 36,68	0,13	482,34 \pm 21,35	446,23 \pm 19,83	0,90
Površina FTG vlakna po jedru	481,77 \pm 25,59	495,00 \pm 36,05	0,77	463,43 \pm 20,98	439,53 \pm 19,49	0,41
Prosečna površina vlakna pojedru	489,82 \pm 23,06	496,65 \pm 32,49	0,86	473,26 \pm 18,91	447,54 \pm 17,56	0,33

Rezultati poređenja površina pojedinih tipova vlakana i prosečne površine vlakna po jednom jedru kod životinja iz malog sa jedinkama iz velikog legla, bez obzira na pol i tretman, prikazani su u Tabeli 96. Površina STO i FTO vlakna po jednom jedru bila je manja kod životinja iz malog legla, dok je površina FTG vlakna i prosečna površina vlakna po jednom jedru bila veća kod jedinki iz malog legla u odnosu na životinje iz

velikog legla. Ipak, razlike u prosečnim vrednostima posmatranih osobina između legala različite veličine nisu bile statistički značajne (Tabela 96).

Tabela 96. Uticaj veličine legla na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru, LSM \pm SE

Osobina	Malo leglo (n=27)	Veliko leglo (n=20)	p
Površina STO vlakna po jedru	491,57 \pm 15,18	504,78 \pm 17,57	0,59
Površina FTO vlakna po jedru	466,97 \pm 16,73	491,24 \pm 19,37	0,39
Površina FTG vlakna po jedru	482,53 \pm 16,44	457,34 \pm 19,03	0,37
Prosečna površina vlakna po jedru	481,39 \pm 14,82	472,24 \pm 17,15	0,70

Pol kao jedini ispitivani faktor, bez obzira na pripadnost životinja malom ili velikom leglu, kontrolnoj ili tretiranoj grupi, nije imao značajnije efekte na površinu pojedinih tipova vlakana i prosečnu površinu vlakna po jednom jedru (Tabela 97). Ipak, sve posmatrane osobine bile su brojčano niže kod jedinki ženskog pola u odnosu na mužjake. Površina STO vlakna po jednom jedru kretala se od 488,58 μm^2 kod ženki do 507,77 μm^2 kod mužjaka; površina FTO vlakna bila je kod ženki 464,28 μm^2 a kod mužjaka 493,93 μm^2 ; površina FTG vlakna po jednom jedru bila je 451,48 μm^2 kod ženskih životinja i 488,38 μm^2 kod životinja muškog pola, a prosečna površina vlakna po jednom jedru iznosila je 493,24 μm^2 kod mužjaka u odnosu na 460,40 μm^2 kod ženki (Tabela 97).

Tabela 97. Uticaj pola na površinu (μm^2) pojedinih tipova mišićnih vlakana tovljenika po jednom jedru, LSM \pm SE

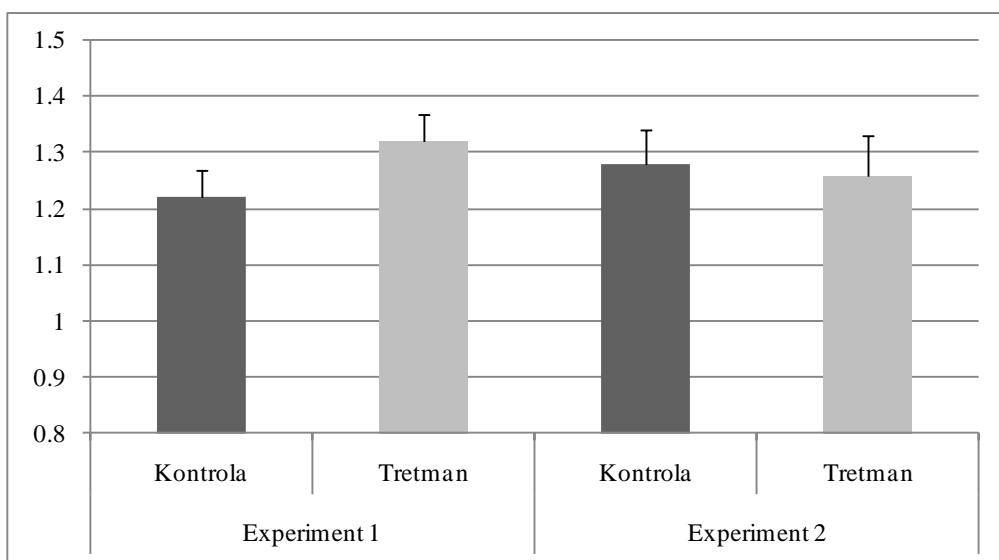
Osobina	Muški pol (n=15)	Ženski pol (n=32)	p
Površina STO vlakna po jedru	507,77 \pm 20,41	488,58 \pm 13,22	0,43
Površina FTO vlakna po jedru	493,93 \pm 22,49	464,28 \pm 14,57	0,11
Površina FTG vlakna po jedru	488,38 \pm 22,11	451,48 \pm 14,32	0,17
Prosečna površina vlakna po jedru	493,24 \pm 19,92	460,40 \pm 12,90	0,17

6. Diskusija

Osnovni cilj rada je bio da se ispita da li izoflavon soje, daidzein, dodat u obrok suprasnih krmača tokom kasne faze graviditeta, ima uticaja na povećanje mase prasadi pri rođenju i na kraju tova, morfološku i mikroskopsku strukturu i porast skeletnih mišića potomaka. Pored daidzeina, praćen je i uticaj veličine legla i pola (kod tovljenika) na navedene osobine.

Istraživanje je sprovedeno u dva zasebna eksperimenta. U Eksperimentu 1, krmače su hranjene smešom u koju je bila uključena sojina sačma, a od 85og dana gestacije dodavan je sintetički daidzein u količini 8 mg/kg hraniva. U Eksperimentu 2, krmače su hranjene smešom koja nije sadržala ni soju ni proizvode od soje, tako da kontrolna grupa krmača nije uopšte dobijala daidzein tokom čitavog perioda suprasnosti, dok je oglednoj grupi krmača od 85og dana gestacije čist sintetički daidzein aplikovan u količini 1 mg/kg telesne mase. Zbog razlika u postavkama Eksperimenta 1 i 2, rezultati dobijeni u svakom od njih nisu međusobno poređeni.

Dobijeni rezultati, i u Eksperimentu 1 i u Eksperimentu 2, su pokazali da masa prasadi pri rođenju nije bila pod uticajem dodavanja daidzeina u obrok majki. Ukoliko je posmatran samo uzorak muške prasadi, na kojem su kasnije obavljanje i histološke analize mišića prasadi, može se zaključiti da različiti tretmani u Eksperimentu 1, i u Eksperimentu 2 nisu uticali na masu muške prasadi na rođenju (Slika 43). Ovi rezultati nisu u skladu sa rezultatima koje su dobili Liu i sar. (1999) i Ren i sar. (2001), koji su ustanovili povećanje mase muške prasadi pri rođenju kao posledicu ishrane majki uz dodatak daidzeina.



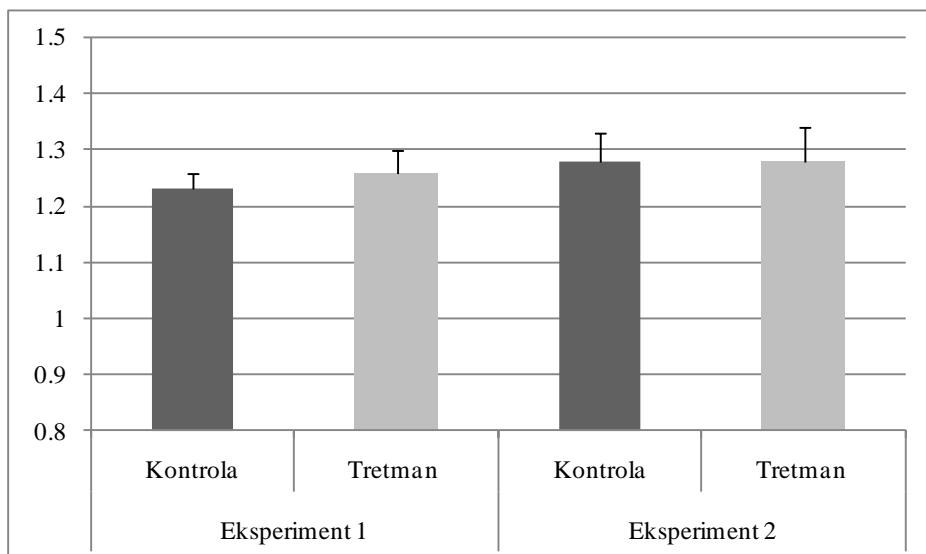
Slika 43. Masa prasadi na rođenju, žrtvovane za histološke analize (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Liu i sar. (1999) navode da je daidzein, izoflavon prisutan u velikoj količini u zrnu soje i drugih leguminoza. Strukturno je sličan estrogenima sisara. Ovi autori su ustanovili da ishrana suprasnih krmača sa obrocima u koje je bio dodat daidzein, dovodi do poboljšanja pre i post-natalnog porasta novorođene muške prasadi.

Ren i sar. (2001) su ispitujući uticaj dodavanja daidzeina u hranu suprasnih krmača od 85. dana gestacije, ustanovili da je daidzein doveo do značajnog povećanja mase na rođenju kod muške prasadi i da je ispoljio uticaj na fetalni rast, dok kod prasadi ženskog pola nije imao uticaj na porast mase na rođenju. Ovi autori izveli su zaključak da je daidzein preko povećane ekspresije IGF I receptora u mišiću imao stimulativan uticaj na porast. U istraživanju Ren i sar. (2001), doze daidzeina su bile slične kao u Eksperimentu 1 ovog istraživanja. Rezultati Eksperimenta 1, u kome su krmače takođe imale soju uključenu u obrok, i uz to dobijale sintetički daidzein, pokazuju da je kod eksperimentalne grupe prasadi muškog pola masa bila nešto veća (1,32 kg) u odnosu na kontrolnu prasad (1,22 kg), ali ova razlika nije potvrđena kao statistički značajna.

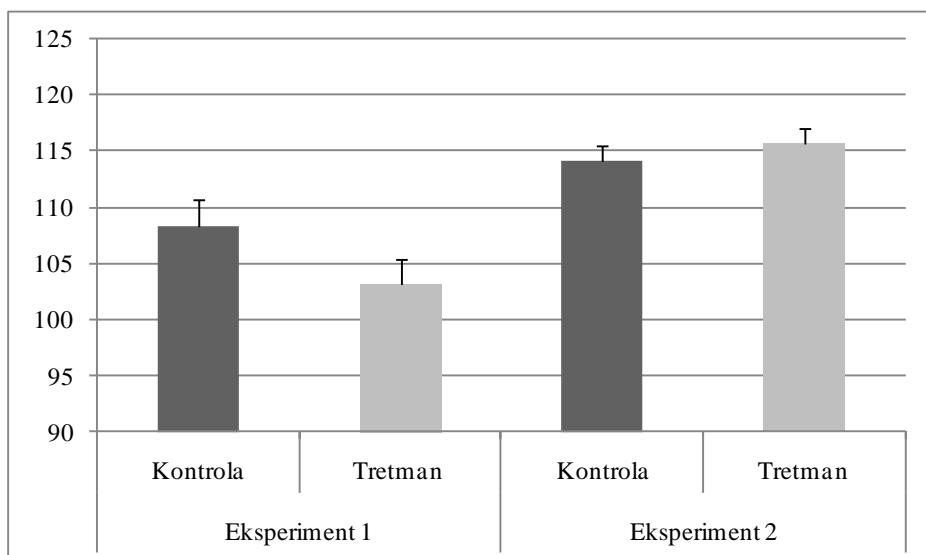
Proširivanje uzorka i statistička analiza podataka za svu prasad koja su ušla u tov ($n=172$ u Eksperimentu 1, i $n=181$ u Eksperimentu 2) potvrdili su nalaze dobijene samo

za mušku prasad, da tretman daidzeinom nije uticao na masu prasadi na rođenju (Slika 44).



Slika 44. Masa na rođenju sve prasadi obuhvaćene istraživanjem (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

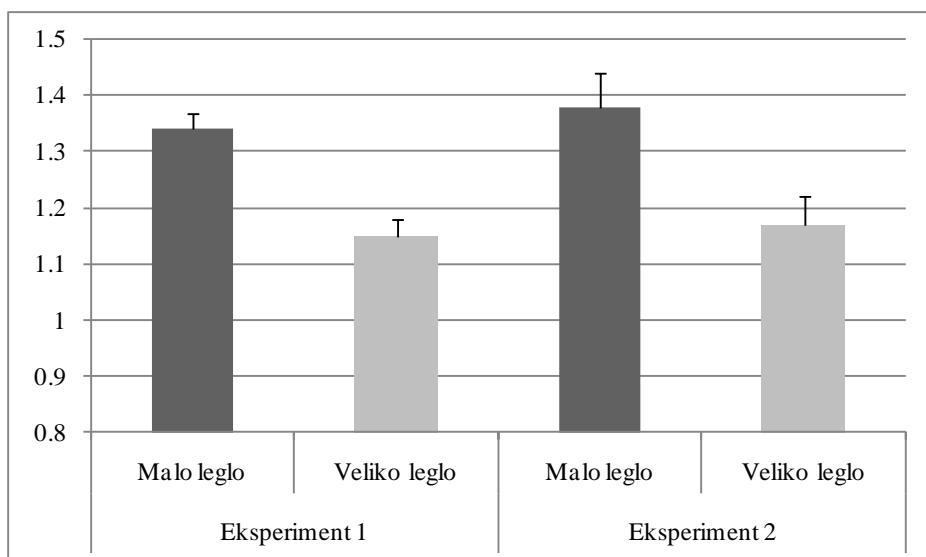
Slične konstatacije, o odsustvu uticaja daidzeina, su utvrđene i za telesnu masu na kraju tova, koja se nije značajno razlikovala između tovljenika kontrolne i eksperimentalne grupe, kako u Eksperimentu 1, tako i u Eksperimentu 2 (Slika 45).



Slika 45. Klanična masa na kraju tova, svih životinja obuhvaćenih istraživanjem (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

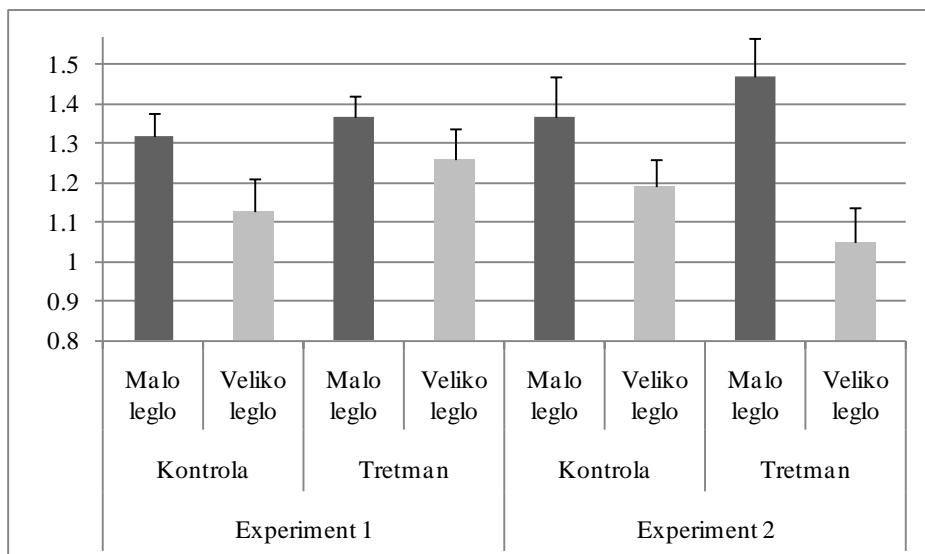
Nasuprot daidzeinu, veličina legla ispitivana kao jedini faktor, imala je veći efekat na masu prasadi pri rođenju (Slika 46). Ovi rezultati su u skladu sa onima koje navode

Town i sar. (2004), koji su ustanovili veću telesnu masu kod prasadi, kada je broj prasadi u materici bio smanjen jednostranim podvezivanjem jajovoda. Kod velikih legala, između prasadi postoji veoma izraženo takmičenje (kompeticija) za hranom u materici majki, tako da je snabdevanje plodova hranljivim materijama teže nego kada je broj prasadi manji. Do sličnih konstatacija su došli i Perre i Etienne (2000), i Quiniou i sar. (2002).



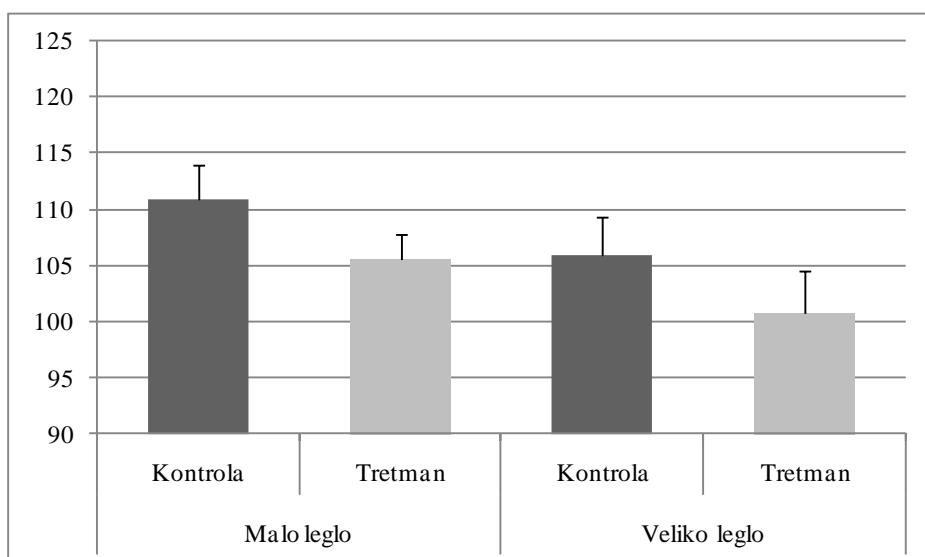
Slika 46. Masa sve prasadi na rođenju u zavisnosti od veličine legla (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Interakcija tretmana i veličine legla, nije imala uticaj na masu prasadi na rođenju kod uzorka koji je obuhvatio svu prasad koja su ušla u tov. Međutim, posmatrano na uzorku samo muške prasadi ($n=12$) koja su kasnije korišćena za histološke analize, u Eksperimentu 2 je uočen statistički značajan uticaj ($p=0,02$) daidzeina na masu prasadi iz legala različite veličine (Slika 47). Ovakav rezultat mogao bi potvrditi nalaze Ren i sar. (2001) koji izveštavaju o stimulatornim efektima daidzeina na masu muške prasadi na rođenju.



Slika 47. Masa prasadi na rođenju, žrtvovane za histološke analize, u zavisnosti od tretmana i veličine legla (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

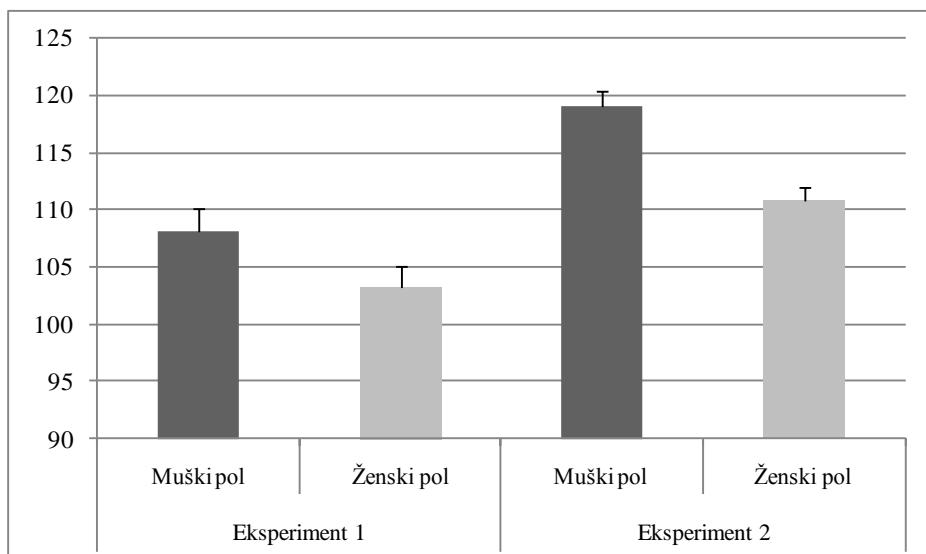
Rehfeldt i Kuhn (2006) pokazali su da razlike u masi koje postoje između različitih težinskih grupa kod novorođene prasadi, imaju isti trend i kod odraslih životinja na kraju tova. Uočeni uticaj veličine legla na masu prasadi na rođenju, nije zabeležen kod klanične mase tovoljenika, ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2 (Slika 46). Takođe na klaničnu masu nije uticala ni interakcija tretmana i veličine legla (slika 48).



Slika 48. Klanična masa tovlenjnika u zavisnosti tretmana i veličine legla (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

Postanatalni porast prasadi i masa na kraju tova nisu bili pod značajnim uticajem ishrane majki daidzeinom, kao ni veličinom legla. Veći uticaj, imao je pol (Slika 49).

Klanična masa tovljenika muškog pola, u Eksperimentu I, bila je statistički značajno ($p=0,02$), a u Eksperimentu II veoma visoko statistički značajno ($p< 0,0001$) veća u odnosu na jedinke ženskog pola.



Slika 49. Klanična masa tovljenika u zavisnosti pola (kg). Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Za ceo period tova, od rođenja, telesna masa se povećala oko 84 puta, u eksperimentu 1. Veće povećanje, kao i veće vrednosti klanične mase su postignute u eksperimentu 2. Kod muških tovljenika povećanje telesne mase iznosi oko 93 puta a kod ženki 87 puta. O značajnom uticaju pola na klaničnu masu tovljenika izveštavaju Kuhn i sar. (1995), Bee (2004).

Dodavanje daidzeina u obrok suprasnih krmača od 85-og dana gestacije nije ispoljilo uticaj na masu prasadi na rođenju, i klaničnu masu tovljenika kako u okviru muškog, tako ni u populaciji jedinki ženskog pola, ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2.

Mau i sar. (2006) navode da je uloga estrogena i supstanci sličnih estrogenima, kao što su fitoestrogeni u hrani, u porastu skeletnih mišića kod prasadi, još uvek velika nepoznanica. Oni su, u *in vitro* uslovima, ispitivali efekte estrogena (estradiol, estron) i izoflavona (genistein, daidzein) na porast kulture satelitskih ćelija kod svinja. Na osnovu dobijenih rezultata, autori ukazuju da i estrogeni i izoflavoni mogu imati

direktni uticaj na rast mišičnih ćelija kod svinja, ali ti uticaji su zavisni od dva faktora: doze i vremena davanja.

Postnatalni porast mišića u ovom istraživanju je praćen preko morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus*-a (masa, dužina, obim i površina poprečnog preseka), kod novorođene prasadi i tovljenika na kraju tova. Ustanovljeno je da ove osobine nisu bile pod uticajem ishrane majki uz dodatak daidzeina u toku kasne faze suprasnosti. Uticaj dodavanja daidzeina se nije ispoljio ni kod prasadi u Eksperimentu 1 (tabela 15, slika 24, 25, 26, 27) ni kod prasadi u Eksperimentu 2 (tabela 57, slika 34, 35, 36, 37). Takođe dodavanje daidzeina u obrok suprasnih krmača nije imalo uticaja na morfološke osobine mišića kod tovljenika ni u Eksperimentu 1 (tabela 26), ni u Eksperimentu 2 (tabela 68). Od rođenja do kraja tova, masa i poprečni presek mišića *m. semitendinosus*-a, pokazuju najveće promene. Tako se masa mišića uvećava oko 170 puta a površina poprečnog preseka 35 – 54 puta. Promene znatno manjeg intenziteta se događaju kod osobina dužine i obima mišića. Vrednost dužine *m.semitendinosus*-a, se od rođenja do kraja tova povećala 4,7 do 5 puta, dok se obim ovog mišića povećao 5,7 do 6 puta.

Dobijene vrednosti su u skladu sa onima koje, za isti mišić, navode Rehfeldt i sar. (2008) kod domaćih svinja. Ovi autori su, poredeći divlje i domaće svinje, ustanovili da i pored sličnih vrednosti na rođenju, posle 20 nedelja tova, dolazi do značajnih razlika u pogledu morfoloških osobina mišića, kao posledice domestikacije. Razlike su najveće kod onih parametara koji se i najviše povećavaju sa uzrastom, a to su masa i poprečni presek mišića. Svakako da su ove promene povezane sa promenama u veličini (prečniku) i broju mišičnih vlakana, kao posledica selekcije odnosno domestikacije svinja.

Za razliku od tretmana daidzeinom, znatno veći uticaj na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a, imala je veličina legla i to samo kod prasadi a ne i kod tovljenika. Kako navode Berard i sar. (2008), ovaj faktor - veličina legla, zapravo svoj uticaj ispoljava indirektno, preko telesne mase prasadi, jer su prasad iz manjih legala imala veću telesnu masu u odnosu na prasad iz većih legala. Zato je ispravnije govoriti o uticaju telesne mase na rođenju na određene osobine mišića. U Eksperimentu 1, kao i u

kontrolnoj grupi Eksperimenta 2 ovog istraživanja, prisutne su navedene razlike u morfološkim osobinama *m. semitendinosus*-a, ali one nisu potvrđene kao statistički značajne.

U oglednoj grupi Eksperimenta 2, prasad iz malih legala, odnosno prasad veće telesne mase, imala su statistički značajno veću masu ($p=0,05$) i dužinu mišića ($p=0,05$), u odnosu na prasad iz velikih legala (Tabela 97). Za osobine obim ($p=0,09$) i površina ($p=0,08$) poprečnog preseka *m. semitendinosus*-a utvrđene su tendencije povećanja vrednosti kod prasadi iz malih legala u odnosu na prasad iz većih legala, što je u skladu sa novodima Perre i Etienne (2000), Quiniou i sar. (2002), Town i sar. (2004).

Tabela 97. Uticaj tretmana na masu prasadi na rođenju i morfološke osobine mišića u Eksperimentu 2 u zavisnosti od veličine legla, LSM \pm SE

Osobina	Kontrola		p	Tretman		p
	Malo leglo	Veliko leglo		Malo leglo	Veliko leglo	
Masa prasadi, kg	1,37 \pm 0,10	1,19 \pm 0,07	0,18	1,47 \pm 0,10	1,05 \pm 0,09	0,02
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	2,94 \pm 0,32	2,60 \pm 0,24	0,43	3,15 \pm 0,32	2,11 \pm 0,30	0,05
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	4,86 \pm 0,20	4,77 \pm 0,15	0,71	5,13 \pm 0,20	4,48 \pm 0,19	0,05
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	3,73 \pm 0,20	3,34 \pm 0,15	0,16	3,68 \pm 0,20	3,13 \pm 0,19	0,09
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm ²	1,11 \pm 0,10	0,90 \pm 0,08	0,14	1,08 \pm 0,10	0,80 \pm 0,10	0,08

Uticaj veličine legla, ili interakcije tretmana i veličine legla na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a, nije primećen kod tovljenika, obzirom da između vrednosti pojedinih posmatranih osobina kod legala različite veličine nisu zabeležene statistički značajne razlike.

Kod tovljenika je, međutim, uočen uticaj pola na morfološke osobine *m. semitendinosus*-a. I u Eksperimentu 1, i u Eksperimentu 2, jedinke ženskog pola imale su veće vrednosti za morfološke osobine mišića u odnosu na jedinke muškog pola (Tabela 98). U Eksperimentu 1 ove razlike u vrednostima nisu bile statistički značajne. U Eksperimentu 2 masa mišića nije bila pod uticajem pola, dok su za dužinu, obim i površinu poprečnog preseka *m. semitendinosus*-a, utvrđene tendencije porasta kod tovljenika ženskog pola u odnosu na mužjake, na kraju tova. Bee (2004) je takođe ustanovio jak uticaj pola na morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*-a, mada je

ovaj autor utvrdio jak uticaj pola i na masu *m. semitendinosus*-a, što nije u skladu sa rezultatima Eksperimenta 1 i Eksperimenta 2 ovog istraživanja. Neki autori nisu registrovali uticaj pola pri analizi mišića *m. longissimus*-a (Staun, 1963; Rehfeldt i sar., 1999), dok je kod istog mišića Bee (2004) utvrdio statistički veoma značajno veću površinu poprečnog preseka mišića kod tovljenika ženskog pola u odnosu na kastrate. Isti autor nije utvrdio efekat pola pri ispitivanju *m. rectus femoris*-a (Bee, 2004). Moguće je da pol ima različite efekte na morfološke osobine kod različitih mišića, ali bi radi potpunijeg sagledavanja uticaja ovog faktora bilo neophodno sprovesti dalja istraživanja.

Tabela 98. Uticaj pola na morfološke osobine mišića tovljenika, LSM \pm SE

Osobina	Muški pol	Ženski pol	p
Eksperiment 1			
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	455,14 \pm 23,45	487,69 \pm 22,95	0,12
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	22,98 \pm 0,63	24,02 \pm 0,62	0,21
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	21,20 \pm 0,45	21,59 \pm 0,44	0,35
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm ²	35,88 \pm 1,47	37,16 \pm 1,44	0,37
Eksperiment 2			
Masa <i>m. semitendinosus</i> , g	439,29 \pm 8,70	450,30 \pm 7,71	0,25
Dužina <i>m. semitendinosus</i> , cm	22,27 \pm 0,22	22,70 \pm 0,19	0,08
Obim <i>m. semitendinosus</i> , cm	19,35 \pm 0,29	19,92 \pm 0,26	0,06
Površina <i>m. semitendinosus</i> , cm ²	29,96 \pm 0,94	31,79 \pm 0,85	0,06

Masa mišića u najvećoj meri zavisi od broja i veličine mišićnih vlakana, dok drugi elementi mišićnog tkiva (npr. vezivno tkivo) u manjoj meri utiču na finalnu masu mišića. I broj, i veličina odnosno prečnik mišićnih vlakana u pozitivnoj su korelaciji sa površinom mišića i posledično njegovom masom, međutim između debljine i broja mišićnih vlakana postoji negativna korelacija: što je veći broj vlakana u mišiću, ta će vlakna biti manje debljine, i obrnuto, što su vlakna deblja – njihov je broj u okviru jednog mišića manji (Rehfeldt i sar., 2000). Dok je broj mišićnih vlakana u pozitivnoj korelaciji sa količinom bezmasnog mesa, smatra se da prekomerno povećanje prečnika vlakana ima negativan uticaj na kvalitet mesa (Te Paas i sar., 2004). Takođe, broj mišićnih vlakana je veoma važna determinanta brzine postnatalnog rasta, obzirom da životinje sa većim brojem vlakana rastu brže i efikasnije iskorišćavaju hranu u odnosu na jedinke sa manjim brojem vlakana u mišiću (Dwyer i sar., 1993, Dwyer i sar., 1994).

Zbog toga je ukupan broj vlakana jedna od najvažnijih histoloških osobina pri ispitivanju mišićnog tkiva.

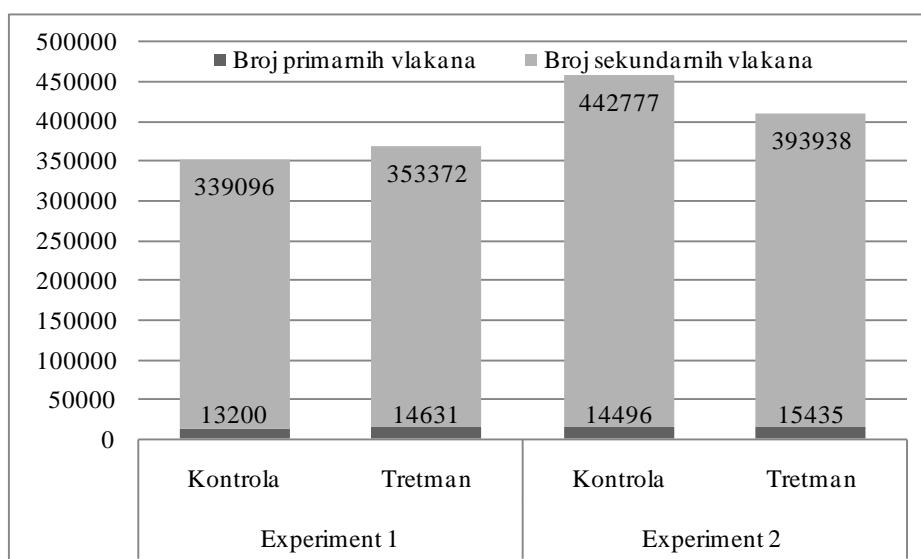
Kod svinja, kod kojih gestacija traje 114 dana, proces formiranja vlakana odvija se u dve ili tri faze. U prvoj fazi, koja počinje oko 25-30 dana gestacije i traje do 50-60 dana formira se prvi talas tzv. primarnih ili P vlakana, dok su prva sekundarna ili S vlakna vidljiva već oko 50tog dana gestacije, a formiraju se sve do 80tog dana (Swatland i Cassens, 1973; Wigmore i Stickland, 1983). Sekundarna vlakna razvijaju se na površini primarnih vlakana, tako da se oko svakog P vlakna može razviti 20-25 sekundarnih vlakana (Stickland i Handel, 1986; Nissen i sar. 2003). Novija istraživanja (Brameld, 2008, Berard i sar., 2011) ukazuju na postojanje treće faze formiranja vlakana, tokom koje se između sekundarnih vlakana razvijajaju tercijalna ili T vlakna, i to tokom prvih dana ili nedelja postnatalnog života.

Broj primarnih i sekundarnih vlakana, i odnos sekundarna:primarna vlakna pokazatelji su potencijala porasta i mase mišića (Dwyer i sar., 1993). Veći broj istraživanja (Stickland i Handel, 1986, Dwyer i sar., 1993, Rehfeldt i Kuhn, 2006) ukazuje na relativno konstantan broj primarnih vlakana novorođene prasadi, gde ova vlakna čine 3-5% ukupnog broja vlakana, i da ovaj parametar nije podložan uticajima različitih faktora. Ipak, Rehfeldt i sar. (2001a) ukazuju na značajno povećanje broja primarnih vlakana kod potomstva krmača tretiranih somatotropinom tokom rane faze miogeneze, dok Rehfeldt i sar. (2012) ukazuju na smanjenje broja primarnih vlakana kod prasadi pri ishrani majki krmača tokom gestacije obrocima sa smanjenim procentom proteina. U ovim istraživanjima promene broja primarnih vlakana uočene su kod prasadi srednje ili najmanje težinske grupe, što može ukazivati na mogućnost manipulacije sa brojem primarnih vlakana kod onih životinja kod kojih je uočen manji ukupan broj mišićnih vlakana i posledično manja telesna masa. Za razliku od broja primarnih vlakana, broj sekundarnih vlakana zavisi od različitih faktora (ishrane, genetike i dr.) i smatra se da je ovo osobina koja više doprinosi varijacijama u ukupnom broju vlakana (Wigmore i Stickland, 1983, Dwyer i Stickland, 1991, Rehfeldt i sar., 2001a).

Ukupan broj vlakana u *m. semitendinosus*-u kod novorođene prasadi u ovom istraživanju kretao se od oko 350×10^3 do oko 450×10^3 , što je u skladu sa rezultatima

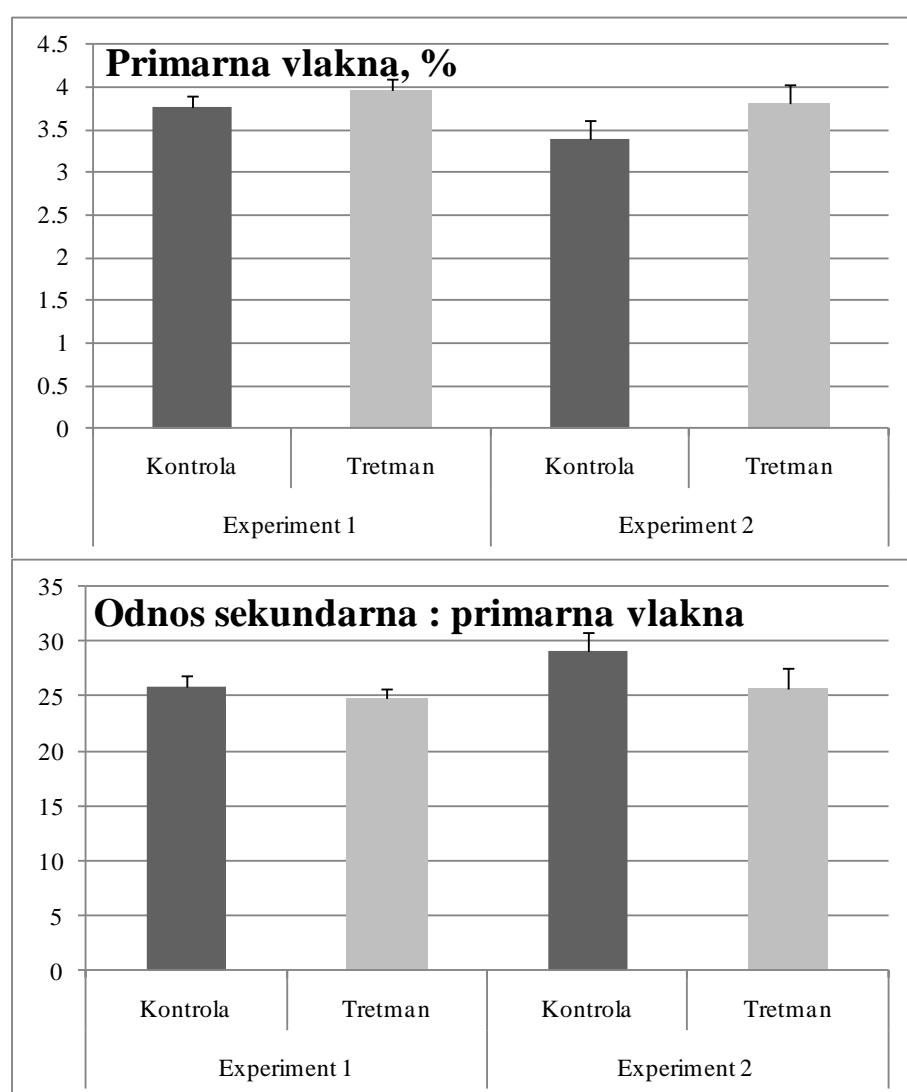
drugih autora (Stickland i Handel, 1986, Rehfeldt i sar., 1993, Dwyer i sar., 1994). Broj primarnih vlakana u posmatranom mišiću kretao se od 11-15.000, a broj sekundarnih vlakana od oko 320×10^3 do oko 440×10^3 , što takođe odgovara nalazima drugih autora (Stickland i Handel 1986, Rehfeldt i Kuhn, 2006).

Tretman suprasnih krmača daidzeinom tokom kasne faze gestacije nije imao statistički značajne efekte na ukupan, broj primarnih i broj sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus*-u novorođene prasadi ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2 (Slika 50). Međutim, u okviru Eksperimenta 2 ovog istraživanja, ukupan broj vlakana i broj sekundarnih vlakana bili su kod oglednih životinja za oko 50.000 niži u odnosu na kontrolne životinje. Ji i sar. (1999) i Rehfeldt i sar. (2009) utvrdili su inhibitorno dejstvo pre svega genisteina na proliferaciju i fuziju mioblasta, ali onda kada je genistein dodavan u toku inicijacije mioblasta, i odsustvo bilo kakvih efekata (Rehfeldt i sar., 2009) na mišićno tkivo kada su izofolavoni dodavani u kasnim fazama. Mau i sar. (2008) i Rehfeldt i sar. (2009), navode znatno slabije dejstvo daidzeina na mišićne ćelije u poređenju sa genisteinom. Uočene razlike u ukupnom broju vlakana, i u broju sekundarnih vlakana između kontrolne i eksperimentalne grupe životinja u Eksperimentu 2 ovog istraživanja nisu potvrđene kao statistički značajne. Ovakav nalaz, ipak, nameće potrebu daljeg ispitivanja uticaja dodavanja daidzeina tokom kasne faze suprasnosti na osobine mišića kod podmlatka.



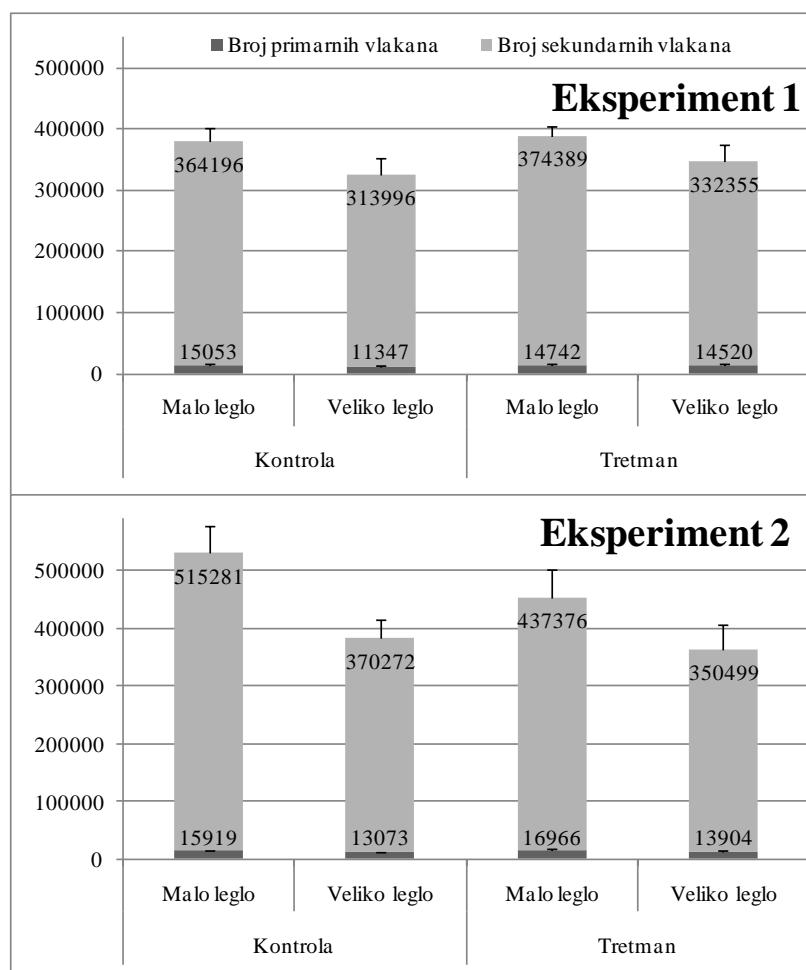
Slika 50. Broj primarnih i sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus* prasadi u zavisnosti od tretmana.
Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Procenat primarnih vlakana u ovom istraživanju kretao se od 3,38 do 4,13, a odnos broja sekundarnih prema broju primarnih vlakana kretao se oko 25, osim kod kontrolnih životinja u Eksperimentu 2, gde je zabeležen odnos 29,05, mada ova vrednost nije bila statistički značajno veća u odnosu na vrednost od 25,67 zabeleženu kod tretiranih životinja u Eksperimentu 2 (Slika 51). Stickland i Handel (1986) i Rehfeldt i Kuhn (2009) zabeležili su kod *m. semitendinosus*-a odnos sekundarna:primarna vlakna 24,6 odnosno 22,93, što odgovara nalazima dobijenim u ovom istraživanju. Veći odnos sekundarna:primarna vlakna u kontrolnoj grupi Eksperimenta 2 svakako je posledica većeg broja sekundarnih vlakana kod ovih životinja u odnosu na sve ostale grupe, dok je broj primarnih vlakana kod ove grupe bio u nivou ostalih grupa.



Slika 51. Procenat primarnih vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna u *m. semitendinosus* prasadi, u zavisnosti od tretmana. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Veličina legla imala je, posredno preko mase na rođenju, znatno veći uticaj na ukupan broj vlakana, kao i broj primarnih i sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus*-u novorođene prasadi, kako u Eksperimentu 1 tako i u Eksperimentu 2 (Slika 52). Iako su u okviru Eksperimenta 1 za sve navedene osobine uočene veće vrednosti kod jedinki iz malog legla, jedino je razlika u broju primarnih vlakana kod kontrolnih životinja potvrđena kao statistički značajna ($p=0,05$). U okviru Eksperimenta 2, kontrolna mala legla imala su statistički značajno veći ukupan broj vlakana ($p=0,04$) i broj sekundarnih vlakana ($p=0,04$), i jaku tendenciju povećanja broja primarnih vlakana ($p=0,07$) sa smanjenjem broja prasadi u leglu. Slično kretanje vrednosti broja vlakana je utvrđeno i kod legala različite veličine u okviru tretmana, ali bez statistički potvrđenih značajnosti. Ovakvi rezultati potpuno su u skladu sa rezultatima drugih autora koji su utvrdili veći broj vlakana kod životinja veće mase na rođenju (Wigmore i Stickland, 1983, Dwyer i Stickland, 1991, Rehfeldt i sar., 2001, Nissen i sar., 2004, Town i sar., 2004).



Slika 52. Broj primarnih i sekundarnih vlakana u *m. semitendinosus* prasadi u zavisnosti od tretmana i veličine legla. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

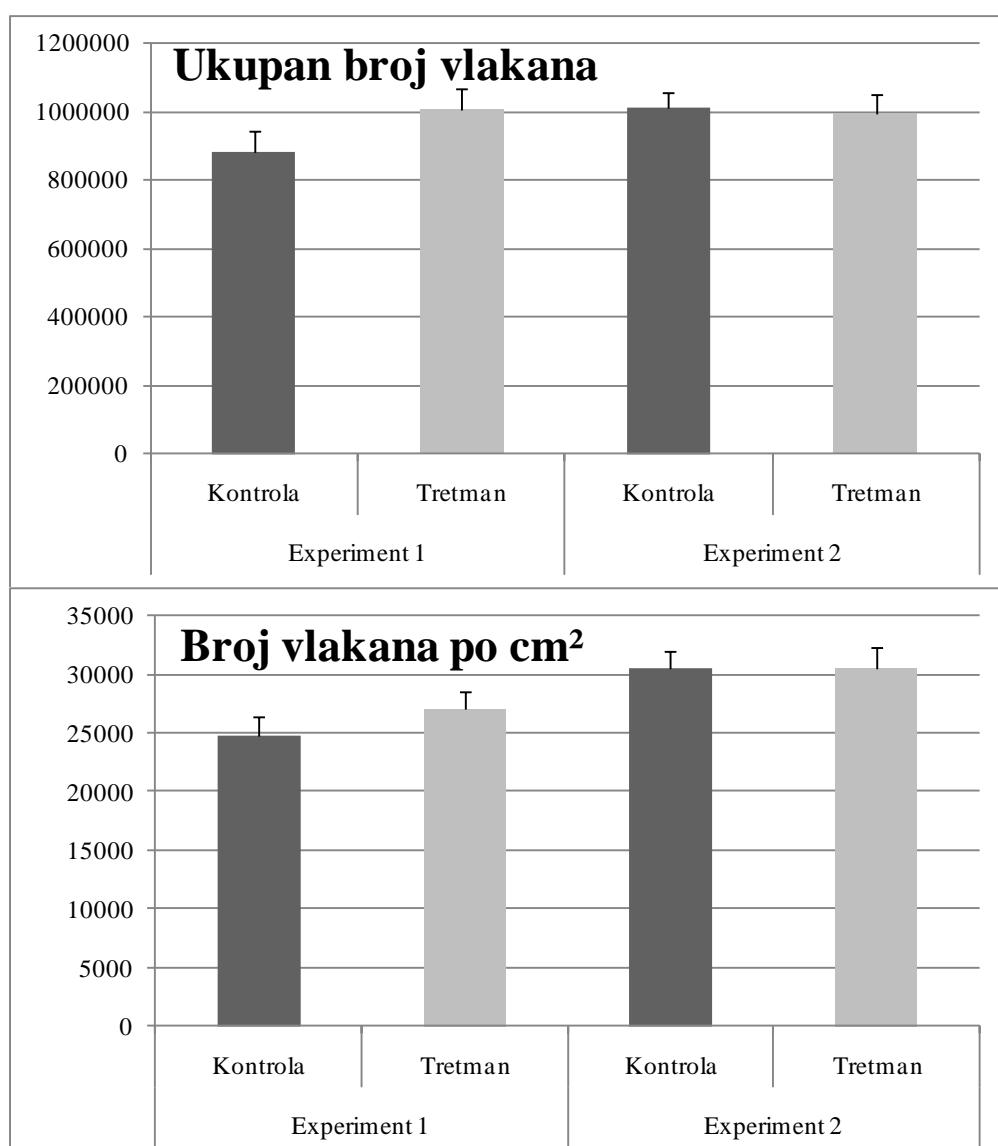
Procenat primarnih vlakana, kao relativni pokazatelj, bio je dosta ujednačen i kada je u okviru kontrole i tretmana posmatran uticaj veličine legla kao faktora. Ovaj parametar kretao se od oko 3,3 do oko 4,1%, a razlike između legala različite veličine nisu bile statistički značajne, što je u skladu sa rezultatima Dwyer i sar. (1994). Obzirom da veličina legla ili nije uticala na statistički značajne promene broja pojedinih tipova vlakana, ili su te promene bile u istom smeru (kod kontrolnih legala različite veličine u Eksperimentu 2), odnos sekundarna:primarna vlakna ostao je takođe relativno konstantan, sa vrednostima koje su se kod većine grupa kretale u rasponu 24-26, osim kod kontrolne grupe u Eksperimentu 2, gde je i kod malog i kod velikog legla odnos sekundarna:primarna vlakna bio oko 29. Na osnovu rezultata ovog istraživanja može se reći da veličina legla nije imala uticaj na procenat primarnih vlakana i odnos sekundarna:primarna vlakna.

Prema Rehfeldt i sar. (1987) prečnik mišićnih vlakana kod svinja rase Nemački landras povećava se od momenta rođenja pa sve do dvadesete nedelje života kada dostiže plato, i kasnije ostaje relativno konstantan. Za razliku od prečnika vlakana, broj mišićnih vlakana ne menja se već od pete nedelje starosti. Zbog toga su sve eventualne manipulacije sa brojem mišićnih vlakana moguće jedino tokom intrauterinog razvoja i tokom prvih nedelja postnatalnog života.

Dakle, zbog pojave novih mišićnih vlakana u toku prvih nedelja postnatalnog života, koja su najverovatnije posledica kombinovanog delovanja prorastanja i izduživanja postojećih vlakana sa jedne strane, i razvoja tercijalnih mišićnih vlakana sa druge strane (Berard i sar., 2011), broj mišićnih vlakana u *m. semitendinosus*-u povećava se od oko $300 - 400 \times 10^3$ koliko se može izmeriti kod novorođene prasadi (Stickland i Handel, 1986, Rehfeldt i sar., 1993, Dwyer i sar., 1994, Rehfeldt i sar., 1999) do oko $650 - 1.000 \times 10^3$ vlakana koliko se može uočiti kod odraslih životinja (Nissen i sar., 2003, Gondret i sar., 2005, Rehfeldt i Kuhn, 2006, Rehfeldt i sar., 2008).

Rezultati sprovedenog Eksperimenta 1 i Eksperimenta 2 ovog istraživanja, u saglasnosti su sa nalazima prethodno pomenutih autora u pogledu ukupnog broja mišićnih vlakana u *m. semitendinosus*-u tovljenika. Tretman suprasnih krmača daidzeinom nije imao

statistički značajan uticaj na ukupan broj vlakana na poprečnom preseku mišića, obzirom da se u Eksperimentu 1 ukupan broj vlakana kretao od oko 900×10^3 kod kontrole do 1.000×10^3 kod eksperimentalne grupe, dok je u Eksperimentu 2 broj vlakana kod kontrolnih i oglednih životinja bio ujednačen, oko 1.000×10^3 . Broj vlakana preračunat na 1cm^2 površine mišića kretao se oko 25.000 u Eksperimentu 1, i oko 30.000 u Eksperimentu 2, i takođe nije bio pod uticajem dodavanja daidzeina (Slika 53).



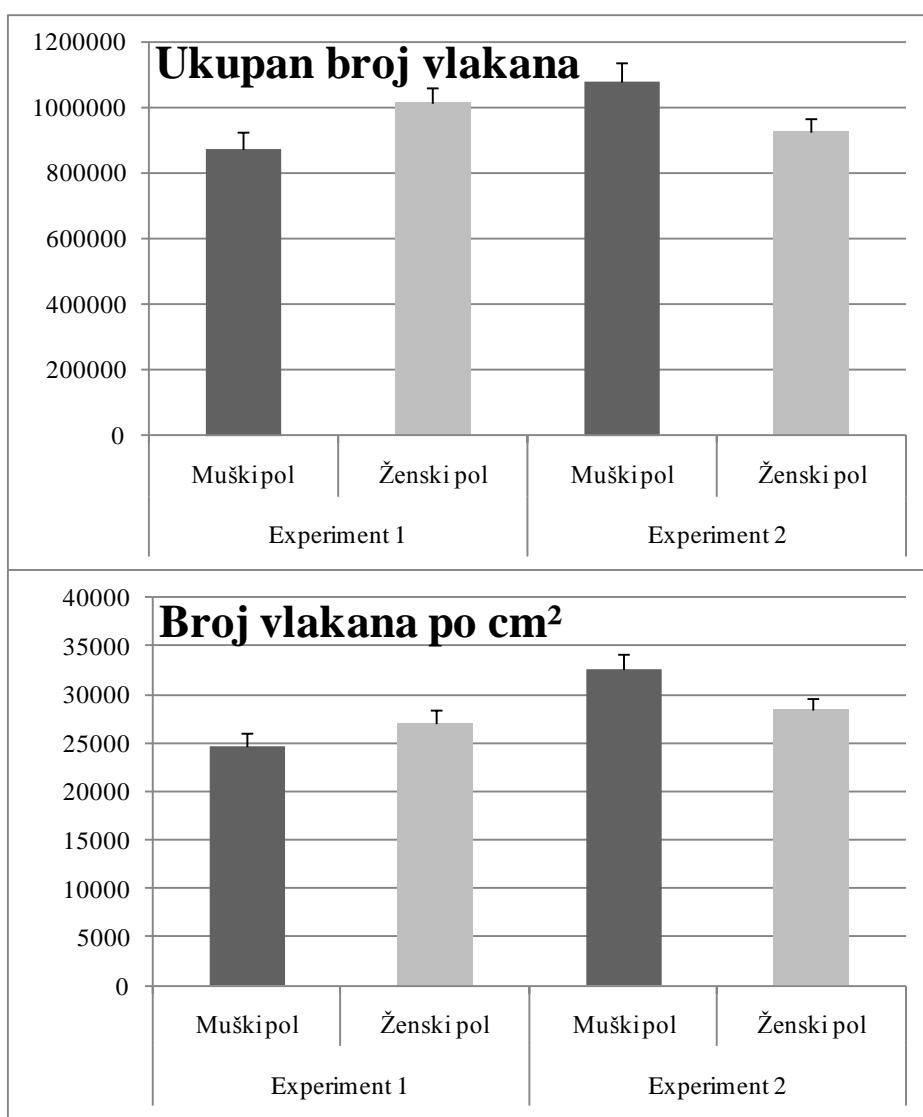
Slika 53. Broj vlakana ukupno i po cm^2 *m. semitendinosus* tovljenika u zavisnosti od tretmana. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Rehfeldt i Kuhn (2006) pokazali su da razlike u masi koje postoje između različitih težinskih grupa kod novorođene prasadi, zadržavaju isti trend i kod odraslih životinja na kraju tova. Rezultati istraživanja Rehfeldt i Kuhn (2006) pokazali su takođe da morfološke osobine mišića: masa, dužina, i površina poprečnog preseka, kao i ukupan broj mišićnih vlakana koreliraju sa masom na rođenju, i da kod prasadi koja su pri rođenju bila manje mase sve navedene osobine imaju manje vrednosti u odnosu na prasad iz srednje ili najveće težinske grupe kod kojih su autori utvrdili najveću masu, dužinu i površinu poprečnog preseka *m. semitendinosus*-a, i najveći ukupan broj vlakana na poprečnom preseku. Ovakav trend nije uočen kod tretirane grupe životinja u Eksperimentu 2 ovog istraživanja u okviru kojeg je postojala statistički značajna razlika u masi na rođenju između životinja iz malog i velikog legla, ta razlika se manifestovala i u tendencijama smanjenja vrednosti morfoloških osobina mišića kod prasadi iz velikih legala, ali je ukupan broj vlakana kod tovljenika poreklom iz malih i iz velikih legala bio ujednačen, oko 1.000×10^3 , te razlika u ukupnom broju vlakana kod tovljenika, kod kojih je pri rođenju bila utvrđena značajna razlika u masi, nije bila statistički značajna ($p=0,9517$).

Veličina legla ispitivana kao jedini faktor, u ovom istraživanju nije imala uticaj na ukupan broj vlakana na poprečnom preseku mišića, kao ni na broj vlakana na 1 cm^2 površine mišića ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2. Takođe, interakcija tretmana i veličine legla nije uticala na promene u ukupnom broju vlakana, kao ni u broju vlakana na 1 cm^2 površine mišića.

U pogledu uticaja pola na broj mišićnih vlakana u mišiću, nalazi većeg broja autora su kontradiktorni. Tako Staun (1963), Dwyer i sar. (1994), Nissen i sar. (2003), nisu pronašli nikakav uticaj pola na broj vlakana na poprečnom preseku mišića kod svinja. Rehfeldt i sar. (1999) ukazuju na veći broj mišićnih vlakana kod muških jedinki različitih vrsta. Nissen i sar. (2003) utvrdili su statistički značajno manji broj vlakana kod ženskih jedinki potomaka krmača hranjenih ad libitum u periodu od 25og do 50og dana gestacije u poređenju sa muškim potomcima iste grupe krmača.

U ovom istraživanju, pol je ispoljio veoma značajan uticaj na ukupan broj vlakana na poprečnom preseku i broj vlakana na 1 cm^2 površine mišića i u Eksperimentu 1 i u Eksperimentu 2 (Slika 54). Međutim, u Eksperimentu 1 utvrđen je statistički značajno veći ($p=0,01$) ukupan broj vlakana kod životinja ženskog pola, dok je u Eksperimentu 2 statistički značajno veći ukupan broj vlakana ($p=0,04$) i broj vlakana na 1 cm^2 površine mišića ($p=0,03$) zabeležen kod kastrata.



Slika 54. Broj vlakana ukupno i po cm^2 *m. semitendinosus* tovljenika u zavisnosti od pola. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Ispitivan je i uticaj tretmana u okviru polova. U Eksperimentu 1, kod muškog pola je tretiranje krmača fitoestrogenom daidzeinom dovelo do povećanja ukupnog broja vlakana za oko 70.000, mada ovo povećanje nije bilo statistički značajno. Isti trend

povećanja ukupnog broja vlakana kod muških potomaka krmača koje su dobijale daidzein, za oko 90.000, uočen je i u Eksperimentu 2, ali ni u ovom slučaju razlika nije bila statistički značajna. Ipak, kod ženskih životinja u Eksperimentu 1, dodavanje daidzeina u ishranu njihovih majki krmača, uslovilo je povećanje ukupnog broja vlakana za oko 185.000 u odnosu na ženske potomke krmača koje nisu dobijale daidzein, što je statistički potvrđeno kao jaka tendencija ($p=0,07$). Suprotno tome, u Eksperimentu 2 su ženski potomci krmača tretiranih daidzeinom imali za oko 120.000 vlakana manje u poređenju sa ženskim jedinkama potomcima kontrolnih krmača ($p=0,11$).

Ovakvi rezultati donekle su u saglasnosti sa nalazima drugih autora. Rempel i Clapper (2002), i Hilleson-Gayne i Clapper (2005) su u svojim istraživanjima utvrdili zavisnost koncentracije IGF-a od 17β estradiola, gde je aplikacija estradiola dovodila do povećanja koncentracije IGF-a u serumu (Rempel i Clapper, 2002), a smanjivanje koncentracije estradiola u serumu uz pomoć inhibitora dovodilo je do smanjenja koncentracije IGF-a (Hilleson-Gayne i Clapper, 2005). Prema ovim autorima, dakle, estradiol bi posredno preko IGF ose mogao imati uticaj i na porast svinja odnosno porast mišićnog tkiva. Enns i Tiidus (2010) ukazuju na stimulirajuće dejstvo estrogena u obnavljaju mišićnog tkiva nakon povreda, preko aktivacije i proliferacije satelitskih ćelija. Mau i sar. (2008) nisu primetili gotovo nikakve efekte estrogena na proliferaciju mišićnih ćelija pri fiziološkim koncentracijama, ali je zato zapaženo inhibitorno dejstvo estrogena na proliferaciju mišićnih ćelija ukoliko je estrogen aplikovan u suprafiziološkim koncentracijama. Efekti dodavanja fitoestrogena tokom graviditeta na porast i karakteristike mišića verovatno su zavisni od doze, jedinjenja koje se koristi, mišića koji se isputuje, i zbog toga je za rasvetljavanje značaja i efekata ovih jedinjenja na mišićno tkivo, neophodno sprovesti dodatna istraživanja.

Osim promene u ukupnom broju vlakana od momenta rođenja prasadi, tokom prvih nekoliko nedelja postnatalnog života, u ovom periodu se takođe odvija transformacija primarnih, sekundarnih i tercijalnih vlakana koja su se mogla uočiti u mišiću novorođene prasadi, u različite tipove vlakana koji postoje u mišiću odraslih životinja. Smatra se da će se od primarnih (P) vlakana razviti sporo okidajuća oksidativna STO

vlakna, dok će se većina sekundarnih (S) i tercijalnih (T) vlakana transformisati u brzo okidajuća vlakna, koja će po metabolizmu biti ili oksidativna (FTO), ili glikolitička (FTG) u zavisnosti od toga da li su se razvijala u neposrednoj blizini primarnih vlakana, ili dalje od njih (Picard i sar., 2002, Brameld i sar., 2008).

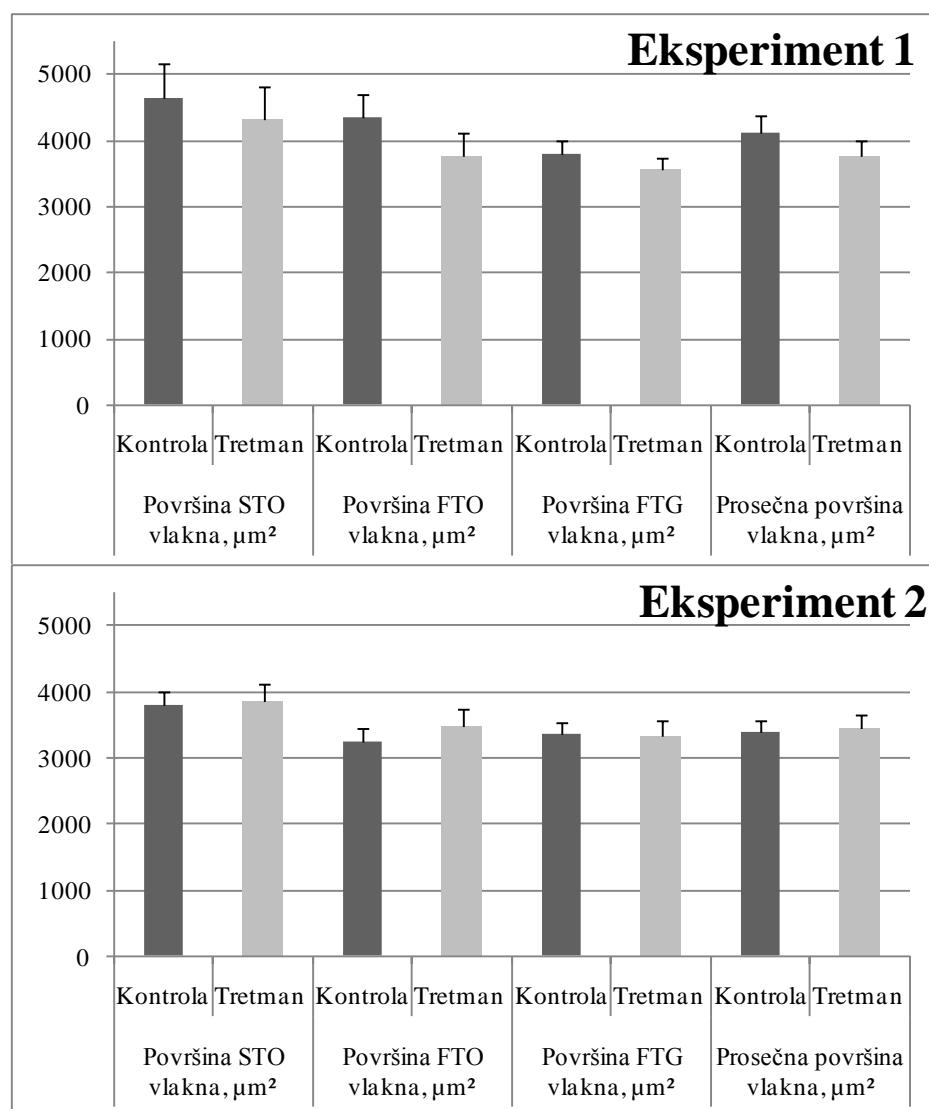
Kako je broj vlakana u mišiću fiksiran tokom prvih nekoliko nedelja postnatalnog života, i nakon toga se više ne menja (Rehfeldt i sar., 1987, Rehfeldt i sar., 2000, Rehfeldt i sar., 2008), postnatalni porast mišića ne dešava se na bazi povećanja broja vlakana, već po osnovu hipertrofije vlakana odnosno povećanja njihovog prečnika i dužine (Wegner i sar., 2000, Rowe i Goldspink, 1969). Ipak, prekomerno povećanje prečnika mišićnih vlakana po pravilu ukazuje na manji broj vlakana u mišiću (Handel i Stickland, 1987., Bee, 2004), što zajedno dovodi do problema sa kvalitetom mesa (Henckel i sar., 1997, Fiedler i sar., 1999). Prema Maltin i sar. (1997), izražena hipertrofija vlakana takođe utiče na smanjenje mekoće svinjskog mesa. Zbog toga veliki broj autora ukazuje na optimalan balans između broja vlakana i njihove postnatalne hipertrofije kao ključni zahtev u selekciji na povećanu količinu bezmasnog mesa i dobar kvalitet mesa u savremenoj svinjarskoj proizvodnji.

Na veličinu vlakna mogu uticati različiti faktori. Rehfeldt i sar. (2008) utvrdili su statistički veoma značajne razlike u površini svih tipova vlakana između divljih i domaćih svinja rase Nemački Landras, u uzrastu od 7 i od 20 nedelja starosti, i to kod tri ispitivana mišića: *m. semitendinosus*, *m. psoas major* i *m. longissimus dorsi*.

Bee i sar. (2004) ustanovili su jak uticaj pola na površinu različitih tipova vlakana u *m. rectus femoris*-u svinja, dok taj uticaj nije uočen u *m. longissimus dorsi*-ju i *m. semitendinosus*-u ovih životinja. Isti autor je uočio uticaj mase na rođenju na veličinu FOG vlakana u *m. semitendinosus*-u, dok kod drugih posmatranih mišića ovaj faktor nije imao nikakav uticaj. Gondret i sar. (2005) ispitivali su tri mišića tovljenika: *m. longissimus lumborum*, *m. rhomboideus* i *m. semitendinosus*, i zapazili značajan uticaj mase na rođenju na površinu mišićnih vlakana, kod sva tri ispitivana mišića. Bee (2004) je takođe kod *m. semitendinosus*-a uočio uticaj različitog nivoa energije u obroku

suprasnih krmača tokom rane gestacije na veličinu vlakana, mada taj efekat nije uočen kod *m. longissimus dorsi*-ja i *m. rectus femoris*-a.

U ovom istraživanju, površine pojedinih tipova vlakana kretale su se od oko 3500 do oko $4500 \mu\text{m}^2$, što predstavlja vrednosti u skladu sa nalazima drugih autora (Rehfeldt i sar., 2008, Gondret i sar., 2005, Velotto i sar., 2010). Tretman krmača daidzeinom tokom kasne suprasnosti, nije imao uticaja na površinu pojedinih tipova mišićnih vlakana ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2 (Slika 55). Efekat dodavanja daidzeina nije uočen ni u interakciji sa polom kao faktorom, niti u interakciji sa veličinom legla kao faktorom.



Slika 55. Uticaj tretmana na površinu pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus* tovljenika. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

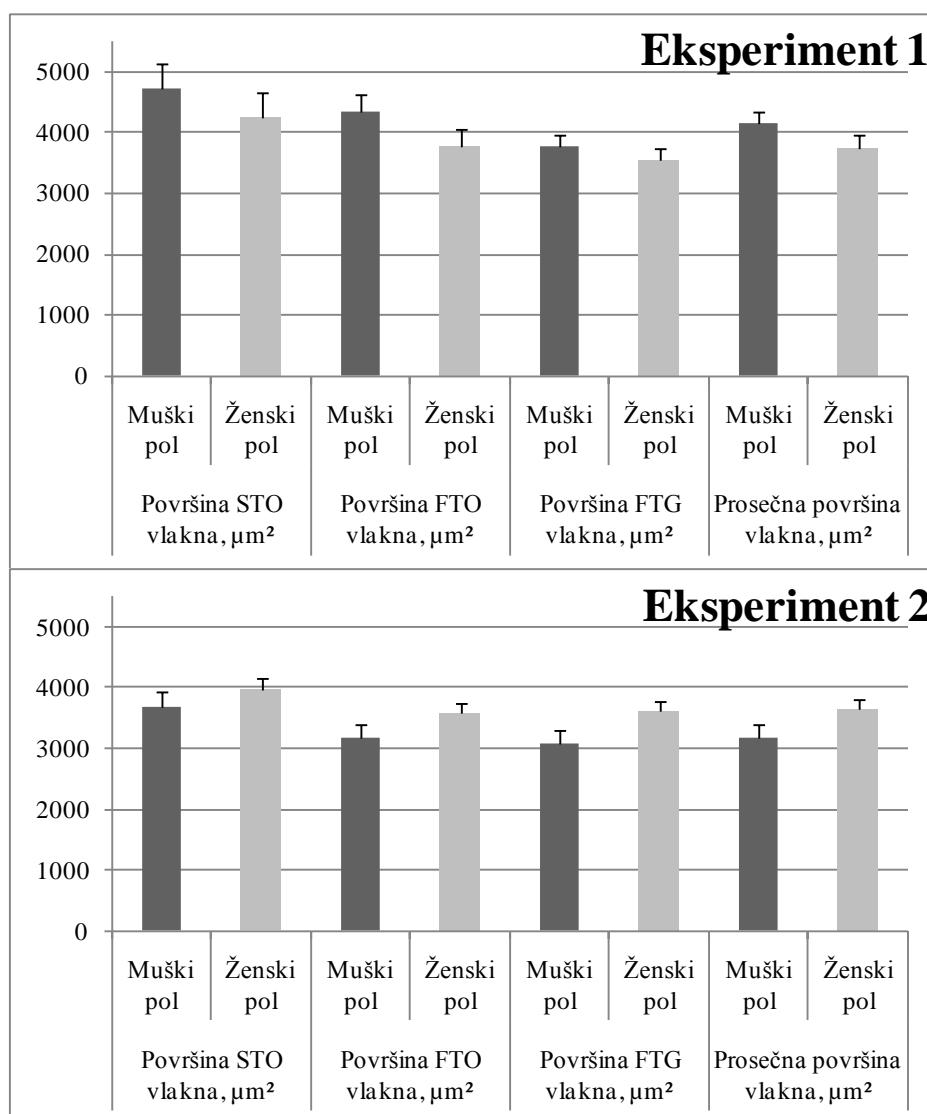
Staun (1963) nije uočio promene u veličini mišićnih vlakana u zavisnosti od pola. Nissen i sar. (2003) nisu zabeležili efekte ni pola, ni povećane ishrane majki tokom različitih faza suprasnosti na veličinu vlakana *m. semitendinosus*-a potomstva. Suprotno tome, Larzul i sar. (1997), su u svom istraživanju utvrdili statistički značajno veću površinu FTO i FTG, i prosečnu površinu vlakna u *m. longissimus dorsi*-ju kod ženki u odnosu na mužjake. Velotto i sar. (2010) utvrdili su značajan efekat pola na veličinu sva tri tipa mišićnih vlakana, kod sva tri mišića (*m. psoas minor*, *m. longissimus dorsi* i *m. rhomboideus*) koja su ispitivali, gde su mužjaci imali veće površine pojedinih tipova vlakana u odnosu na ženke. Bee (2004) utvrdio je različit uticaj pola kod različitih mišića: u *m. longissimus dorsi*-ju i *m. rectus femoris*-u svi tipovi mišićnih vlakana bili su veće površine kod kastrata nego kod ženskih tovljenika. Međutim, i u tamnom, i u svetlom delu *m. semitendinosus*-a , Bee (2004) je zabeležio statistički veoma značajno veće površine svih tipova vlakana kod ženki u odnosu na mužjake.

U ovom istraživanju takođe je uočen efekat pola na površinu mišićnih vlakana (slika 56). U okviru Eksperimenta 1, uočena je statistički značajno veća površina FTO vlakna kod kastrata u odnosu na ženke. Zabeležena je i brojčano veća površina i STO, i FTG, i prosečna površina vlakna kod mužjaka, ali ove razlike nisu potvrđene kao statistički značajne. Rezultati Eksperimenta 1 u skladu su sa nalazima Velotto i sar. (2010).

U okviru Eksperimenta 2, pol kao faktor delovao je u smeru povećanja površina svih tipova vlakana kod ženskih tovljenika u odnosu na mužjake. Površina STO vlakna bila je veća kod ženki nego kod mužjaka, mada bez statistički potvrđene značajnosti, za površinu FTO vlakna utvrđena je tendencija ($p=0,09$) povećanja kod ženki, dok su površina FTG i prosečna površina vlakna bile statistički potvrđeno veće ($p=0,03$) kod ženskih životinja. Ovakvi rezultati su u potpunosti saglasni sa nalazima Larzul i sar. (1997) i Bee (2004).

Razlike u rezultatima o veličini mišićnih vlakana kod drugih autora, Eksperimenta 1 i Eksperimenta 2 ovog istraživanja, mogle bi biti posledica različitih mišića korišćenih za ispitivanje, različite ishrane majki tokom trajanja suprasnosti, različite rase, korišćenja

intaktnih mužjaka ili kastrata u ispitivanju itd. Zbog toga bi bilo neophodno sprovesti dalja istraživanja o uticaju pola na ove karakteristike mišićnih vlakana.



Slika 56. Uticaj pola na površinu pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus* tovljenika. Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

Pored veličine mišićnih vlakana, na kvalitet mesa veoma utiče i zastupljenost pojedinih tipova vlakana u mišićnom tkivu (Karlsson i sar., 1999). Kod modernih mesnatih rasa svinja, selekcijom se forsira dobijanje vlakana većeg prečnika, ali ovakva vlakna imaju tendenciju smanjenja broja mitohondrija u svom sastavu. Metabolizam ovakvih vlakana je glikolitički, ona spadaju u grupu brzo-okidajućih (fast twitch) ili tzv. belih vlakana. Brojna istraživanja na svinjama pokazala su da se za povećan broj FTG vlakana vezuju problemi PSE mesa (Larzul i sar., 1997, Fiedler i sar., 1999) i osjetljivosti na stres

(Fiedler i sar., 1993, 1999). Brzo-okidajuća, FTG vlakna proizvode energiju za kontrakciju kroz glikolitički metabolizam, pa u uslovima kada su zahtevi za energijom visoki (neposredno pred klanje) ovakvim metabolizmom se stvara prevelika količina laktata koji se ne može eliminisati iz ćelija, denaturišu se proteini, i pH vrednost drastično pada, što uslovljava lošiji kvalitet mesa.

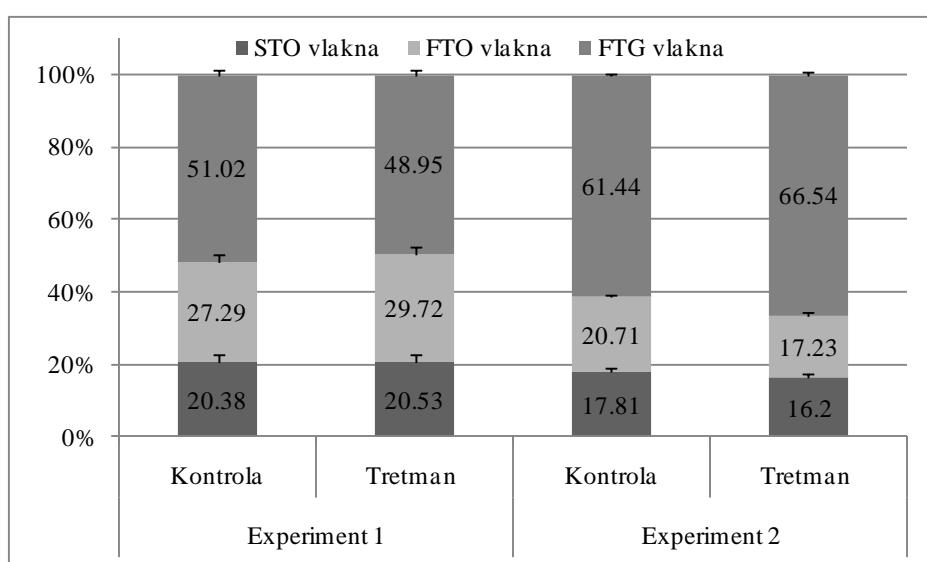
Zastupljenost različitih vrsta vlakana u mišiću odraslih životinja zavisi od velikog broja faktora, najpre vrste, rase i pola životinja, a zatim tipa mišića, njegove lokacije i funkcije, ishrane tokom intrauterinog razvoja itd (Lefaucheur i Gerrard, 1998, Rehfeldt i sar., 1999, Wegner i sar., 2000, Kłosowska i Fiedler, 2003, Brameld i sar., 2008).

Larzul i sar. (1997) u *m. longissimus dorsi*-ju utvrdili su oko 10% STO vlakana, oko 16% FTO i oko 74% FTG. U istom mišiću, Bee i sar. (2004) utvrdili su 8-9% STO vlakana, oko 21% FTO, i oko 70% FTG vlakana. U *m. rhomboideus*-u su najzastupljenija STO vlakna – oko 64%, FTO vlakna učestvuju sa oko 14-15%, a FTG vlakna sa 21-22% (Gondret i sar., 2005).

Zastupljenost pojedinih tipova vlakana takođe se može veoma razlikovati i u okviru jednog mišića. Tipičan primer je *m. semitendinosus* kod svinja, gde se u površinskom tzv. svetлом delu mišića nalazi oko 4% vlakana tipa STO, a u dubokom sloju mišića tzv. tamnom delu, može se naći i do 45% ovog tipa vlakana (Beermann i sar., 1990). Bee (2004) utvrdio je oko 6-7% STO vlakana u površinskom, svetлом delu mišića, i oko 30% ovog tipa vlakana u dubokoj, tamnoj partiji *m. semitendinosus*-a. Ukoliko se ovaj mišić posmatra u celosti, učešće pojedinih tipova vlakana varira u različitim istraživanjima. Rehfledt i sar. (2008) utvrdili su oko 25% STO, oko 30% FTO i oko 45% FTG vlakana. U svom istraživanju, Bee (2004) je u *m. semitendinosus*-u zabeležio oko 19% STO vlakana, oko 26% FTO i oko 55% FTG vlakana.

U ovom istraživanju, u okviru Eksperimenta 1 utvrđeno je oko 20% STO vlakana, 27-29% FTO vlakana i 49-51% FTG vlakana (Slika 57), što u potpunosti odgovara nalazima Bee (2004) i Rehfeldt i sar. (2008). Dodavanje daidzeina u hranu suprasnih krmača nije imalo uticaja na zastupljenost pojedinih tipova vlakana u okviru mišića.

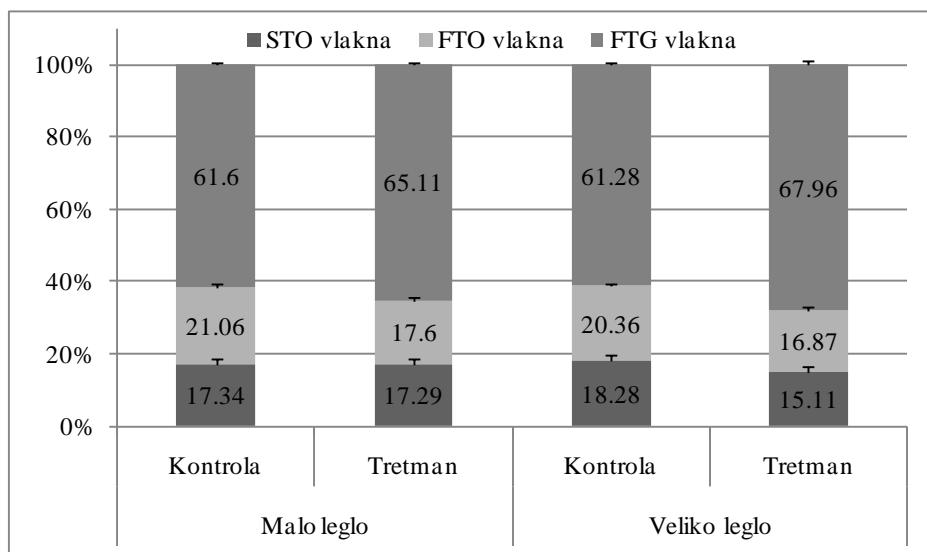
Međutim, u okviru Eksperimenta 2, utvrđen je značajan uticaj tretmana na procentualnu zastupljenost FTO ($p=0,05$) i FTG ($p=0,05$) vlakana, i to tako što se kod životinja iz tretirane grupe procenat FTO vlakana smanjio za oko 3,5% u odnosu na kontrolu, a na račun tog smanjenja povećan je procenat FTG vlakana za oko 5% (Slika 57). Procentualna zastupljenost FTO i FTG vlakana u Eksperimentu 2, dosta se razlikuje u poređenju sa nalazima drugih autora, kao i u poređenju sa nalazima Eksperimenta 1 ovog istraživanja. Mogući uzrok takvog odstupanja je nestandardna ishrana suprasnih krmača u Eksperimentu 2, u kome u obrok tokom čitave suprasnosti nije bila uključena soja. Ovakvo objašnjenje moglo bi biti u skladu sa nalazima Zhu i sar. (2006), koji su utvrdili statistički značajno smanjenje procenta FTO i povećanje procenta FTG vlakana kod potomstva ovaca koje su restriktivno hranjene u periodu od 21og do 78og dana gestacije.



Slika 57. Procentualna zastupljenost pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus* tovljenika u zavisnosti od tretmana. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

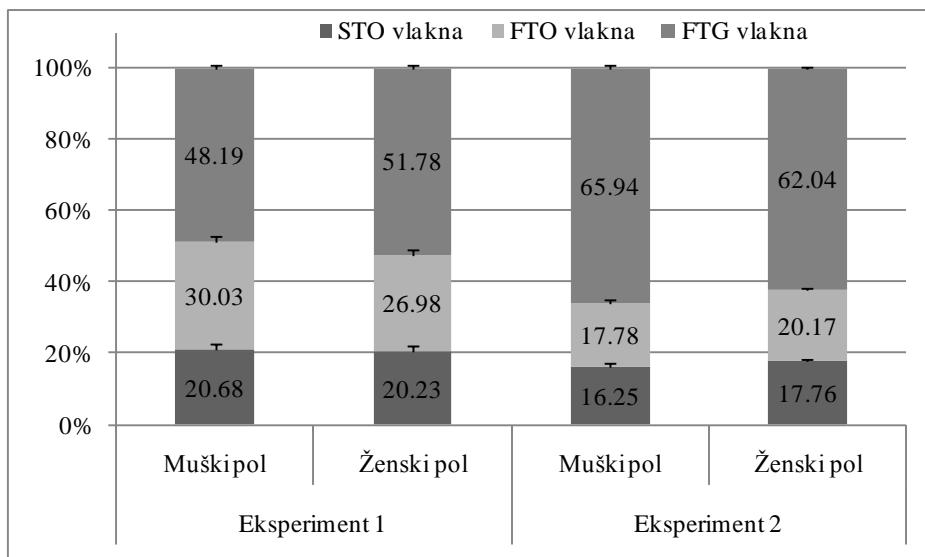
Veličina legla, ispitivana kao jedini faktor, nije imala uticaj na procentualnu zastupljenost pojedinih tipova vlakana ni u okviru Eksperimenta 1, ni u okviru Eksperimenta 2. U okviru Eksperimenta 2 uočena je interakcija tretmana i veličine legla, koja se ispoljila u vidu tendencije smanjenja procenta FTO vlakana kod tretiranih životinja i iz malog ($p=0,08$) i iz velikog legla ($p=0,11$), i kao tendencija povećanja procenta FTG vlakana kod tretiranih životinja iz velikog legla ($p=0,06$) (Slika 58). Ove tendencije, ipak, verovatno nisu posledica uticaja veličine legla, već su posledica dejstva

tretmana koji je u okviru Eksperimenta 2 uticao upravo na zastupljenost FTO i FTG vlakana.



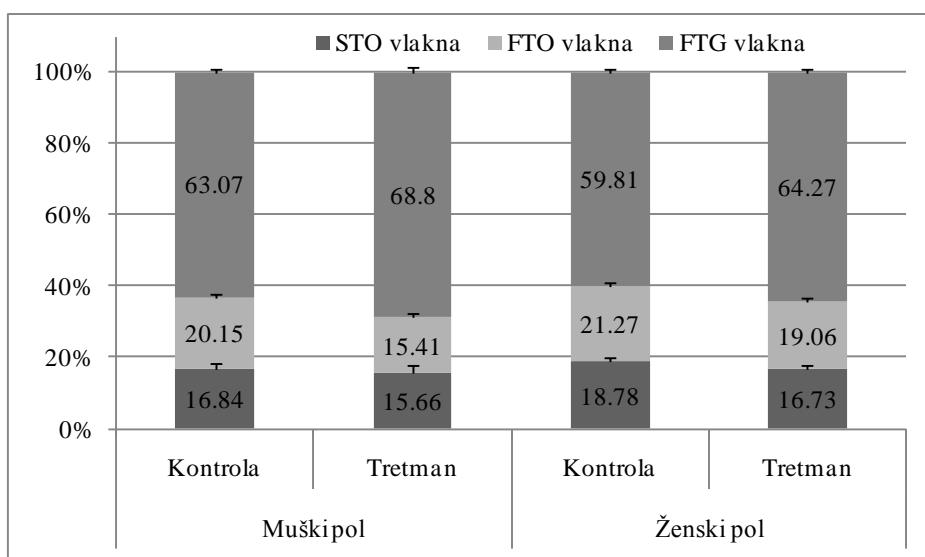
Slika 58. Uticaj veličine legla i tretmana na procenat pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus* tovljenika, Eksperiment 2. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Ispitivanjem pola kao jedinog faktora ustanovljeno je da ovaj faktor nije imao uticaj na procentualnu zastupljenost STO vlakana ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2, što je u skladu sa nalazima drugih autora (Larzul i sar., 1997, Bee, 2004) (Slika 59). Procenat FTO vlakana bio je nešto niži kod ženki (27%) nego kod mužjaka (30%) u Eksperimentu 1, a u Eksperimentu 2 je utvrđen statistički značajno veći procenat ovog tipa vlakana kod ženskih tovljenika u odnosu na muške ($p=0,03$). Procenat FTG vlakana je bio nešto veći kod ženki (52%) u odnosu na mužjake (48%) u Eksperimentu 1. U Eksperimentu 2 se na račun uočenog povećanja procenta FTO vlakana, kod ženskih životinja smanjio procenat FTG vlakana, i bio statistički značajno manji ($p=0,01$) u odnosu na životinje muškog pola (Slika 59). Ovakvi rezultati nisu u skladu sa Larzul i sar. (1997) i Bee (2004) koji u svojim istraživanjima nisu utvrdili uticaj pola na procentualnu zastupljenost FTO i FTG vlakana.



Slika 59. Uticaj pola na procenat pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus* tovljenika. Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

Interakcija pola i tretmana nije imala značajne efekte u okviru Eksperimenta 1 ovog istraživanja. Međutim, u Eksperimentu 2, zabeležene su statistički značajni efekti ove interakcije (Slika 60). Procenat STO vlakana ponovo nije bio promenjen pod uticajem tretmana kod muških jedinki, dok je kod ženki imao tendenciju smanjenja ($p=0,07$) kod tretiranih životinja. Trend smanjenja učešća FTO i povećanja učešća FTG vlakana koji je bio zabeležen kao posledica tretmana, ispoljio se i kod mužjaka i kod ženki.



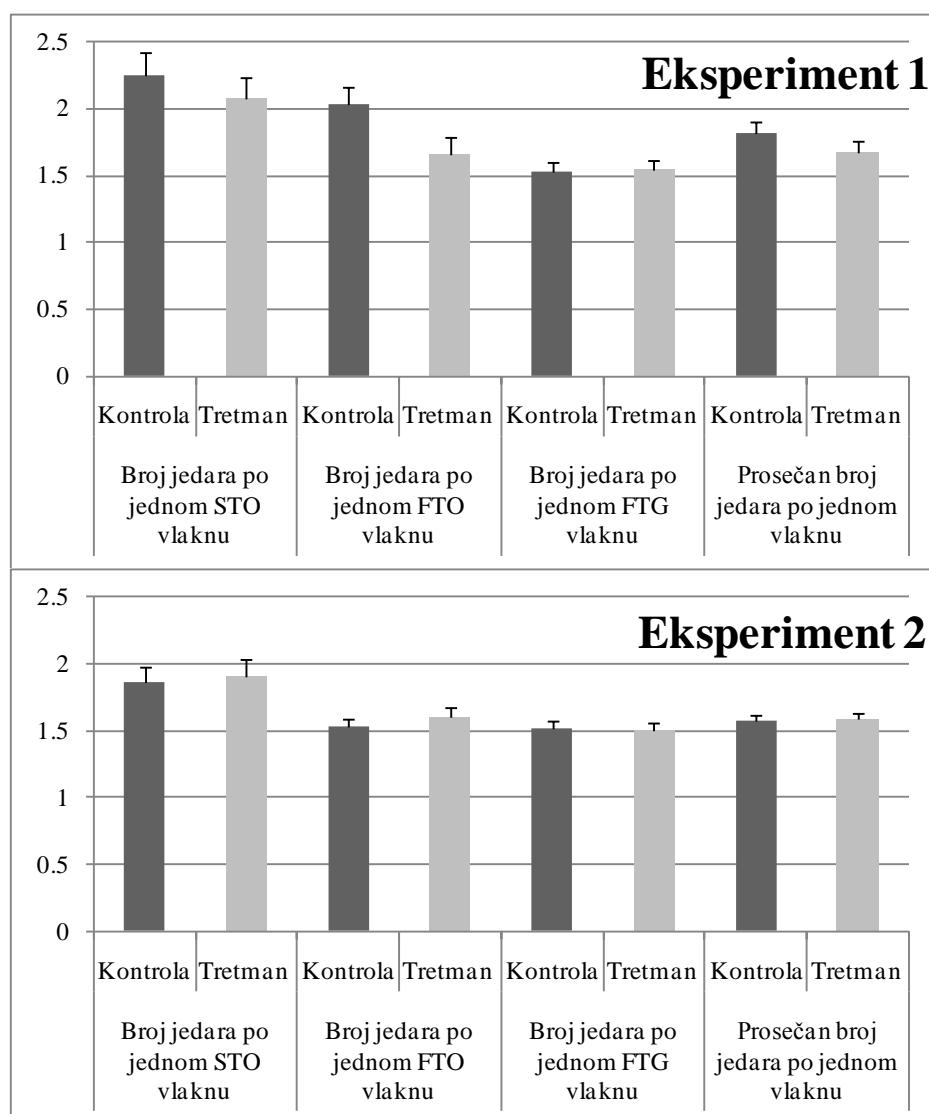
Slika 60. Uticaj pola i tretmana na procenat pojedinih tipova vlakana u *m. semitendinosus* tovljenika, Eksperiment 2. Vrednosti LSM prikazane su kao stubiči, a vrednosti SE kao error bars

Ovakvi nalazi ukazuju da je procentualna zastupljenost sporo kontrahujućih oksidativnih vlakana najmanje podložna promenama, što je u skladu sa nalazima drugih autora (Dwyer i sar., 1994., Larzul i sar., 1997, Nissen i sar., 2003, Bee, 2004). Zastupljenost FTO i FTG vlakana sa druge strane, pod uticajem je velikog broja faktora, pa je i odnos ovih tipova vlakana i postnatalnog porasta još uvek nedovoljno razjašnjen i zahteva dodatna istraživanja.

Da bi se obezbedila što veća i kvalitetnija proizvodnja svinjskog mesa, neophodno je razumevanje mehanizma hipertrofije - postnatalnog porasta mišićnih vlakana sa fiziološkog stanovišta. Smatra se da se pri porastu mišićnog vlakna u njega ubacuju jedra iz satelitskih ćelija, i da svako jedro ishranjuje svoj određeni region citoplazme (Bruusgaard i sar., 2003), dok se tokom atrofije vlakana jedra uklanjaju usled apoptoze (Allen i sar., 1999). Tako se kao rezultat porasta u mišićnim ćelijama povećava broj jedara (Williams i Goldspink, 1971., Allen i sar., 1995) ili se broj jedara u mišićnim vlknima povećava sa povećanjem prečnika vlakana (Rehfeldt i sar., 2008), a pri atrofiji broj jedara smanjuje (Allen i sar., 1995) ili se broj jedara po mišićnom vlaknu smanjuje sa smanjenjem prečnika vlakana (Rehfeldt i sar., 2008). Bruusgaard i sar. (2003) ukazuju da je broj jedara proporcionalan ili zapremini citoplazme mišićnog vlakna, ili spoljašnjoj površini vlakna. Ova osobina mišićnog tkiva mogla bi biti ključni faktor u regulaciji porasta mišića, ili posledica ovog procesa (Gundersen i Bruusgaard, 2008), zbog čega su neophodna dalja ispitivanja ove osobine mišićnih vlakana odnosno mišićnog tkiva.

Rehfeldt i sar. (2008) ispitivali su nekoliko mišića svinja rase Nemački Landras, i ustanovili da je broj jedara po mišićnom vlaknu kod svinja bio ujednačen i u uzrastu od 7 nedelja starosti kada se kretao u rasponu od 0,7 do 1 jedro/vlaknu, i u uzrastu od 20 nedelja kada se kretao u rasponu od oko 1,5 do oko 1,8 kod *m. semitendinosus-a*, *m. psoas major-a* i *m.longissimus dorsi-ja*. U istraživanju Rehfeldt i sar. (1993) kod novorođene prasadi u *m. semitendinosus-u* je zabeleženo 0,95 – 1,17 jedara po mišićnom vlaknu.

U Eksperimentu 1 ovog istraživanja prosečan broj jedara po jednom vlaknu kretao se od 1,68 do 1,82, i nije bio pod uticajem dodavanja daidzeina u obrok suprasnih krmača (Slika 61). Najveći broj jedara imala su STO vlakna (2,07-2,25) koja su u ovom Eksperimentu bila najveće površine, a najmanji broj vlakana (oko 1,55) uočen je kod FTG vlakana, koja su bila najmanje površine poprečnog preseka. Nešto niže vrednosti za ovu osobinu izmerene su u Eksperimentu 2, ali je trend smanjenja broja jedara po vlaknu sa smanjenjem površine vlakna, uočen i Eksperimentu 2, što je u skladu sa nalazima Rehfeldt i sar. (2008).



Slika 61. Broj jedara po tipovima vlakana u zavisnosti od tretmana. Vrednosti LSM prikazane su kao stubići, a vrednosti SE kao error bars

Veličina legla, ispitivana kao jedini faktor, ili u interakciji sa tretmanom daidzeinom, nije imala efekta na broj jedara po pojedinim tipovima vlakana, niti na prosečan broj jedara po jednom vlaknu, ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2. U okviru Eksperimenta 1 zabeleženo je nešto manje jedara po vlaknu kod tovljenika poreklom iz malih legala, dok je u Eksperimentu 2 kod tovljenika iz malih legala bio utvrđen veći broj jedara po vlaknu.

Pol nije imao uticaj na broj jedara po mišićnom vlaknu, ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2. Najveći broj jedara po vlaknu utvrđen je za STO vlakna, a najmanji broj jedara zabeležen je za FTG vlakna i kod mužjaka i kod ženki. Ovakvi rezultati, o odsustvu uticaju pola na broj jedara po jednom mišićnom vlaknu, u skladu su sa nalazima Beerman (1983). Takođe, interakcija pola i tretmana pokazala je uticaj jedino kod ženskih životinja, u oba Eksperimenta, na broj jedara po jednom FTO vlaknu, ali u Eksperimentu 1 tretman suprasnih krmača daidzeinom doveo je do smanjenja broja jedara po FTO vlaknu ($p=0,06$), dok su ženke potomci tretiranih krmača u Eksperimentu 2 imale veći broj jedara po FTO vlaknu ($p=0,04$) u poređenju sa netretiranim životinjama.

Domestikacija i selekcija na povećanu količinu bezmasnog mesa doveli su do povećanja prečnika mišićnih vlakana, i povećanja zastupljenosti brzo okidajućih glikolitičkih vlakana (Rahelić i Puač, 1981, Solomon i West, 1985, Rehfeldt i sar., 2008), što je zbog otežane prokrvljenosti i snabdevenosti vlakana hranljivim materijama za posledicu imalo pojavu problema sa stres sindromom i kvalitetom mesa (Larzul i sar., 1997, Fiedler i sar., 1999). Kadi i sar. (1999) navode da porast broja jedara tokom hipertrofije mišića ne prati povećanje mišićnih vlakana proporcionalno, dok su McCall i sar. (1998) utvrdili povećanje broja jedara srazmerno povećanju zapremine mišićnog vlakna. Nalazi Bruusgaard i sar. (2003) ukazuju na različito kretanje broja jedara u zavisnosti od metabolizma mišića, obzirom da se u oksidativnom *m. soleusu*-u broj jedara povećavao srazmerno povećanju vlakana, dok se u glikolitičkom *m. extensor digitorum longus*-u broj jedara nije povećavao u proporciji sa veličinom mišićnih vlakana. Zbog toga se pri histološkim ispitivanjima mišića kao važna osobina mišićnog tkiva određuje i odnos broja jedara i površine vlakana. Rehfeldt i sar. (2008) utvrdili su oko 500-600 jedara na

mm^2 površine mišićnog vlakna u *m. semitendinosus*-u, *m. psoas major*-u i *m. longissimus dorsi*-ju kod svinja starosti 20 nedelja.

U ovom istraživanju, utvrđivana je površina pojedinih tipova vlakana po jednom jedru. Na jedno jedro dolazilo je oko $450 \mu\text{m}^2$ mišićnog vlakna u Eksperimentu 1, odnosno $470\text{-}480 \mu\text{m}^2$ mišićnog vlakna u Eksperimentu 2. Tretman krmača daidzeinom nije imao uticaj na ovu osobinu mišićnog tkiva ni u Eksperimentu 1, ni u Eksperimentu 2. Nešto veće površine svih tipova vlakana po jednom jedru kod tovljenika poreklom iz velikog legla u odnosu na životinje iz malih legala, uočene su i u Eksperimentu 1, i u Eksperimentu 2, ali su jedino kod površine FTO vlakana po jednom jedru u Eksperimentu 1 statistički potvrđene kao tendencije ($p=0,10$). Interakcija tretmana i veličine legla nije imala uticaja na ovu osobinu ni u jednom Eksperimentu. Nisu registrovani ni statistički značajni uticaji pola, i interakcije pola i tretmana na površinu pojedinih vlakana po jednom jedru. Ipak, površine svih tipova vlakana po jednom jedru bile su nešto veće kod jedinki ženskog pola u okviru Eksperimenta 1, dok su vrednosti za ovu osobinu bile veće kod tovljenika muškog pola u Eksperimentu 2.

7. Zaključak

Rezultati prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji navode na izvođenje sledećih zaključaka, da pod primjenjenim eksperimentalnim uslovima, dodavanja izoflavona soje, daidzeina, u obrok krmača tokom završne faze suprasnosti (od 85-og dana do kraja gestacije):

1. Nije došlo do statistički značajnog uticaja na povećanje postnatalnog porasta telesne mase i morfoloških osobina mišića *m. semitendinosus*, kako kod novorođene prasadi tako ni kod tovljenika, na kraju tova.
2. Za razliku od tretmana daidzeinom, znatno veći uticaj na telesnu masu i morfološke osobine mišića *m. semitendinosus*, kod novorođene prasadi, imala je veličina legla. Prasad iz malih legala imala su statistički značajno veću masu, dužinu, obim i površinu poprečnog preseka mišića *m. semitendinosus* u odnosu na prasad iz većih legala. Veličina legla kao faktor nije uticala na telesnu masu i morfološke osobine mišića kod odraslih životinja na kraju tova.
3. Tretman krmača daidzeinom, u toku kasne faze suprasnosti, imao je mali ali ne i statistički značajan uticaj na histološku strukturu mišića *m. semitendinosus* kod novorođene prasadi, izražen kroz povećanje ukupnog broja mišićnih vlakana, broj primarnih mišićnih vlakana i odnos sekundarna:primarna mišićna vlakna.
4. Slična konstatacija se može navesti i za tovljenike iz Eksperimenta 1, kod kojih nije ispoljena značajna promena broja, procentualne zastupljenosti i površina STO, FTO i FTG mišićnih vlakana, pod uticajem daidzeina. Nasuprot tome u Eksperimentu 2, dodavanje daidzeina u obrok krmača hranjenih obrocima bez soje je dovelo do smanjenja procenta FTO (za 3,5%) i povećanja udela FTG mišićnih vlakana (za 5%) kod tovljenika.

5. Prosečan broj jedara po jednom mišćnom vlaknu, kod tovljenika, nije bio promenjen pod uticajem daidzeina. Konstatovan je trend smanjenja broja jedara sa smanjenjem površine mišćnog vlakna. Tako su STO mišićna vlakna imala najveći broj jedara dok su FTG mišićna vlakna, namanje površine, imala najmanji broj jedara.
6. Veličina legla, odnosno masa prasadi pri rođenju, imala je značajan uticaj na histološku strukturu mišića *m semitendinosus* kod prasadi. Tako su prasad iz malih legala (veće mase na rođenju) imala statistički značajno veći ukupan broj mišćnih vlakana, kao i broj primarnih i sekundarnih mišćnih vlakana. Uticaj veličine legla na procenat primarnih mišćnih vlakana i odnos sekundarna: primarna vlakna, nije ispoljen.
7. Kod tovljenika je ispoljen značajan uticaj pola na telesnu masu i morfološke osobine mišića *m semitendinosus*. Klanična masa tovljenika muškog pola bila je statistički značajno (Eksperiment 1: $p < 0,02$, Eksperiment 2: $p < 0,0001$) veća u odnosu na jedinke ženskog pola. Nasuprot tome, tovljenici ženskog pola imali su veće vrednosti mase, dužine, obima i površine poprečnog preseka ovog mišića u odnosu na jedinke muškog pola.
8. Pol je takođe ispoljio i statistički značajne efekte na ukupan broj mišćnih vlakana i broj mišćnih vlakana po 1 cm^2 površine mišića *m semitendinosus* tovljenika. Međutim, u okviru Eksperimenta 1 veće vrednosti oba parametra uočene su kod jedinki ženskog pola, dok su u okviru Eksperimenta 2, veći ukupan i broj mišćnih vlakana na 1 cm^2 površine mišića zabeleženi kod tovljenika muškog pola.
9. Uticaj pola, kao jedinog faktora, kao i uticaj interakcije pola i tretmana daidzeinom, nisu se ispoljili na zastupljenost pojedinih tipova mišćnih vlakana u Eksperimentu 1. Međutim u Eksperimentu 2, zabeležen je statistički značajan efekat ove interakcije. Trend smanjenja učešća FTO i povećanja učešća FTG

mišićnih vlakana, koji je zabeležen kao posledica tretmana, ispoljio se, i u ovom slučaju, i kod mužjaka i kod ženki.

10. Rezultati ove doktorske disertacije ukazali su na marginalni uticaj dodavanja daidzeina u hranu krmača tokom kasne faze suprasnosti, na postanatalni rast i strukturu mišića *m semitendinosus*, kod potomaka. Istovremeno, otvorena su pitanja stvarne efikasnosti daidzeina, pa ovi rezultati predstavljaju dobru osnovu za dalja istraživanja, u pravcu određivanja optimalne koncentracije i vremena njegovog davanja suprasnim krmačama.

8. Literatura

1. Akyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M., Fukami, Y., 1987. Genistein, a Specific Inhibitor of Tyrosine-specific Protein Kinases. *The Journal of Biological Chemistry*, 262: 5592-5595.
2. Allen, R. E., Merkel, R. A., Young, R. B., 1979. Cellular aspects of muscle growth: myogenic cell proliferation. *Journal of Animal Science*, 49: 115-127.
3. Allen, D. L., Monke, S. R., Talmadge, R. J., Roy, R. R., Edgerton, V. R., 1995. Plasticity of myonuclear number in hypertrophied and atrophied mammalian skeletal muscle fibers. *J. Appl. Physiol.*, 78: 1969-1976.
4. Allen, D. L., Roy, R. R., Edgerton, V. R., 1999. Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. *Muscle Nerve*, 22: 1350-1360.
5. Barnes, S., Kirk, M., Coward, L., 1994. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 2466-2474.
6. Beaulieu, A. D., Aalhus, J. L., Williams N. H., Patience J. F., 2010. Impact of piglet birth weight, birth order, and litter size on subsequent growth performance, carcass quality, muscle composition, and eating quality of pork. *Journal of Animal Science*, 88:2767-2778.
7. Bee, G., 2004. Effect of early gestation feeding, birth weight, and gender of progeny on muscle fiber characteristics of pigs at slaughter. *Journal of Animal Science*, 82: 826-836.
8. Beermann, D. H., 1983. Effect of maternal dietary restriction during gestation and lactation, muscle, sex and age on various indices of skeletal muscle growth in the rat. *Journal of Animal Science*, 57(2): 328-337.
9. Beermann, D. H., Fishell, V. K., Roneker, K., Boyd, R. D., Armbruster, G., Souza, L., 1990. Dose-response relationships between porcine somatotropin, muscle composition, muscle fibre characteristics and pork quality. *J. Anim. Sci.*, 68: 2690-2697.

10. Bennetts, H. W., Underwood, E. J., Shier, F. L., 1946. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Aust. J. Agric. Res.*, 22: 131-138.
11. Berard, J. Kreuzer, M., Bee, G., 2008. Effect of litter size and birth weight on growth, carcass and pork quality, and their relationship to postmortem proteolysis. *Journal of Animal Science*, 86: 2357-2368.
12. Berard, J. Kreuzer, M., Bee, G., 2009. Effect of birth weight and gender on growth performance and carcass characteristics of pigs originating from large litters. *Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich*. 31, 83-86.
13. Berard, J., Kalbe, C., Loesel, D., Tuchscherer, A., Rehfeldt, C., 2011. Potential sources of early-postnatal increase in myofibre number in pig skeletal muscle. *Histochemistry*, 136: 217-225.
14. Bidner, T. D., Merkel, R. A., Miller, E. R., 1972. Effects of a combination of diethylstilbestrol and methyltestosterone on performance, carcass traits, serum and muscle characteristics of pigs. *J. Anim. Sci.*, 35: 525-533.
15. Brameld, J. M., Buttery, P. J., Dawson, J. M., Harper, J. M. M., 1998. Nutritional and hormonal control of skeletal-muscle cell growth and differentiation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57: 207-217.
16. Brameld, J., Fahey, A., Langley-Evans, S., Buttery, P., 2003. Nutritional and hormonal control of muscle growth and fat deposition. *Archives of Animal breeding*, 46 (special issues), 143-156.
17. Brameld, J., Zoe, T., Daniel, R., 2008. In utero effects on livestock muscle development and body composition. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48, 921-929
18. Brandstetter, A. M., Picard, B., Geay, Y., 1998a. Muscle fibre characteristics in four muscles of growing bulls – I. Postnatal differentiation. *Livestock Production Science*, 53: 15-23.
19. Brandstetter, A. M., B. Picard, Y. Geay., 1998b. Muscle fibre characteristics in four muscles of growing male cattle – II. Effect of castration and feeding level. *Livestock Production Science*, 53: 25-36.

20. Brocks, L., Klont, R. E., Buist, W., De Greef, K., Tieman, M., Engel, B., 2000. The effects of selection of pigs on growth rate vs leaness on histochemical characteristics of different muscles. *Journal of Animal Science*, 78: 1247-1254.
21. Brooke, M. H., Kaiser K. K., 1970. Muscle fibre types: How many and what kind. *Archives of Neurology*, 23: 369-379.
22. Brown, S. C., Stickland, N. C., 1994. Muscle at birth in mice selected for large and small body size. *Journal of Anatomy*, 184: 371-380.
23. Bruusgaard, J. C., Liestol, K., Ekmark, M., Kollstad, K., Gundersen, K., 2003. Number and spatial distribution of nuclei in the muscle fibres of normal mice studied *in vivo*. *J. Physiol.*, 551: 467-478.
24. Buonomo, F. C., Klindt, J., 1993. Ontogeny of growth hormone (GH), insulin-like growth factors (IGF I and IGF II) and IGF binding protein-2 (IGFBP-2) in genetically lean and obese swine. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 10: 257-265.
25. Chang, K. C., Da Costa, N., Blackley, R., Southwood, O., Evans, G., Plastow, G., Wood, J. D., Richardson, R. I., 2003. Relationship of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Science*, 64: 93-103.
26. Depreux, F. F. S., Grant, A. L., Gerrard, D. E., 2002. Influence of halothane genotype and body-weight on myosin heavy chain composition in pig muscle as related to meat quality. *Livestock Production Science*, 73: 265-273.
27. Dreyer, J. H., Naude, R. T., Henning, J. W. N., Rossouw, E., 1977: The influence of breed, castration and age on muscle fibre type and diameter in Friesland and Afrikaner cattle. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 7: 171-180.
28. Dwyer, C. M., Stickland, N. C., 1991. Sources of variation in myofiber number within and between litters of pigs. *Animal Production*, 52: 527-533.
29. Dwyer, C. M., Stickland, N. C., 1992. Does the anatomical location of a muscle affect the influence of undernutrition on muscle fibre number? *Journal of Anatomy*, 188: 373-376.
30. Dwyer, C. M., Fletcher, J. M., Stickland, N. C., 1993. Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. *Journal of Animal Science*, 71: 3339-3343.

31. Dwyer C. M., Stickland, N. C., Fletcher, J. M., 1994. The influence of maternal nutrition on muscle fibre number development in the porcine fetus and on subsequent postnatal growth. *Journal of Animal Science*, 72: 911-918.
32. Dwyer, C. M., Madgwick, J. A., Ward, S. S., Stickland, N. C., 1995. Effects of maternal undernutrition in early gestation on the development of fetal myofibres in the guinea-pig. *Reproduction, Fertility and Development*, 7: 1285-1292.
33. Enns, D. L., Tiidus, P. M., 2010. The Influence of Estrogen on Skeletal Muscles: Sex matters. *Sports Medicine* 40, number 1: 41-58.
34. Essen-Gustavsson, B., Lindholm, A., 1984. Fiber types and metabolic characteristics in muscles of wild boars, normal and halothane sensitive Swedish Landrace pigs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 78A: 67.
35. Essen-Gustavsson, B., 1993. Muscle fiber characteristics in pigs and relationships to meat quality parameters – review. In: E. Puolanne and D. I. Demeyer (Ed.) *Pork Quality: Genetic and Metabolic Factors*. pp 140-159. CAB International, Wallingford, UK.
36. Etherton, T. D., Bauman, D. E., 1998. Biology of Somatotropin in Growth and Lactation of Domestic Animals. *Physiological Reviews*, 78: 745-761.
37. Falconer, D.S., 1981. In: *Introduction to Quantitative Genetics*. Ronald Press, New York.
38. Fiedler, I., Ender, K., Wicke, M., von Lengerken, G., 1993. Relationships between micro-structure of muscle tissue and stress susceptibility in Landrace pigs (halothane sensitivity). *Arch. Anim. Breed.*, 36: 525-538.
39. Fiedler, I., Rehfeldt, C., Dietl, G., Ender, K., 1997. Phenotypic and genetic parameters of muscle fiber number and size. *Journal of Animal Science*, 75 (suppl. 1), 165.
40. Fiedler, I., Ender, K., Wicke, M., Maak, S., von Lengerken, G., Meyer, W., 1999. Structural characteristics of muscle fibres in pigs with different malignant hyperthermia susceptibility and different meat quality. *Meat Science*, 53: 9-15.
41. Florini J. R., Ewton, D. Z., Magri, K. A., 1991. Hormones, growth factors, and myogenic differentiation. *Am. Rev. Physiol.*, 53: 201-216.
42. Fritzsche, S., Steinhart, H., 1999. Occurrence of hormonally active compounds in food: a review. *Eur. Food. Res. Technol.*, 209: 153-179.

43. Galler, S., Schmitt, T. L., Pette, D., 1994. Stretch activation, unloaded shortening velocity, and myosin heavy chain isoforms of rat skeletal muscle fibres. *Journal of Physiology* 478: 513-521.
44. Gatford, K. L., Ekert, J. E., Blackmore, K., De Blasio, M. J., Boyce, J. M., Owens, J. A., Campbell, R. G., Owens, P. C., 2003. Variable maternal nutrition and growth hormone treatment in the second quarter of pregnancy in pigs alter semitendinosus muscle in adolescent progeny. *British Journal of Nutrition*, 90: 283-293.
45. Gatford, K. L., Boyce, J. M., Blackmore, K., Smits, R. J., Campbell, R. G., Owens, P. C., 2004. Long-term, but not short-term, treatment with somatotropin during pregnancy in underfed pigs increases the body size of progeny at birth. *J. Anim. Sci.*, 82: 93-101.
46. Gauthier, G. F., 1969. On the relationship of ultrastructural and cytochemical features to color in mammalian skeletal muscle. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 95: 462-482.
47. Gondret, F., Lefaucheur, L., Dalbis, A., Bonneau, M., 1996. Myosin isoform transitions in four rabbit muscles during post-natal growth. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 17: 657-667.
48. Gondret, F., Lefaucheur, L., Louveau, I., Lebret, B., Pichodo, X., Le Cozler, Y., 2005. Influence of piglet birth weight on postnatal performance, tissue lipogenic capacity and muscle histological traits at market weight. *Livestock Production Science* 93: 137-146.
49. Gondret, F., Lefaucheur, L., Juin, H., Louveau, I., Lebret, B., 2006. Low birth weight is associated with enlarged muscle fiber area and impaired meat tenderness of the longissimus muscle in pigs. *Journal of Animal Science*, 84: 93-103.
50. Gundersen, K., Bruusgaard, J. C., 2008. Nuclear domains during muscle atrophy: nuclear lost or paradigm lost? *J. Physiol.*, 586: 2675-2681.
51. Guth, L., Samaha, F. J., 1970. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp. Neurol.*, 28: 365-367.
52. Hancock, D. L., Wagner, J. F., Anderson, D. B., 1991. Effects of estrogens and androgens on animal growth. In: Pearson, A. M and Dutson, T. R. (eds) *Growth*

- regulation in Farm Animals, Advances in Meat Research, Elsevier, London, 7: 255-284.
53. Handel, S. E., Stickland, N. C., 1986. Giant muscle fibres in skeletal muscle of normal pigs. *Journal of Comparative Pathology*, 96: 447-457.
 54. Handel, S. E., Stickland, N. C., 1987. The growth and differentiation of porcine skeletal muscle fibre types and the influence of birthweight. *Journal of Anatomy*, 152: 107-119.
 55. Handel, S. E., Stickland, N. C., 1988. Catch-up growth in pigs: A relationship with muscle cellularity. *Animal Production*, 47: 291-295.
 56. Harrison, A. P., Rowleson, A. M., Dauncey, M. J., 1996. Selective regulation of myofiber differentiation by energy status during postnatal development. *Am. J. Physiol.*, 39: 667-674.
 57. Henckel, P., 1995. Perimortal metabolic events and consequences for meat quality. In: Proceedings of 2nd Dummerstorf Muscle Workshop. Muscle growth and meat quality. FBN Dummerstorf, Rostock, Germany, 77-82.
 58. Henckel, P., Oksbjerg, N., Erlandsen, E., Barton-Gade, P., Bejerholm, C., 1997. Histo- and biochemical characteristics of the longissimus dorsi muscle in pigs and their relationship to performance and meat quality. *Meat Science*, 47: 311-321.
 59. Herpin, P., Lefaucheur, L., 1992. Adaptive changes in oxidative metabolism in skeletal muscle of cold-acclimated piglets. *J. Therm. Biol.*, 17: 277-285.
 60. Hilleson-Gayne, C. K., Clapper, J. A., 2005. Effects of decreased estradiol 17 β on the serum and anterior pituitary IGF-I system in pigs. *Journal of Endocrinology*, 187: 369-378.
 61. Hossner, K. L., 2005. Hormonal Regulation of Farm Animal Growth. CABI Publishing
 62. Jacobs, S. C. J. M., Baer, P. R., Bootsma, A. L., 1996. Effect of hypothyroidism on satellite cells and postnatal fiber development in the soleus muscle of rat. *Cell Tissue Res*, 286: 137-144.
 63. Ji, S., Willis, G. M., Frank, R., Cornelius, S. G., Spurlock, M. E., 1999. Soybean isoflavones, Genistein and Genistin, Inhibit Rat Myoblast Proliferation, Fusion and Myotube Protein Synthesis. *J. Nutr.*, 129: 1291-1297.

64. Jiang, Z. Y., Jiang, S. Q., Lin, Y. C., Xi, P. B., Yu, D. Q., Wu, T. X., 2007. Effects of Soybean Isoflavone on Growth Performance, Meat Quality, and Antioxidation in Male Broilers. *Poultry Science*, 86: 1356-1362.
65. Jones, K. L., Harty, J., Roeder, M. J., Winters, T. A., Banz, W. J., 2005. In vitro effects of soy phytoestrogens on rat skeletal muscle cells. *J. Med Food*, 8 (3): 327-331.
66. Kadi, F., Eriksson, A., Holmner, S., Butler-Brown, G. S., Thornell, L. E., 1999. Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochem. Cell Bio.*, 111: 189-195
67. Kalbe, C., Mau, M., Wollenhaupt, K., Rehfeldt, C., 2007. Evidence for estrogen receptor alpha and beta expression in skeletal muscle of pigs. *Histochem. Cell Biol.*, 127: 95-107.
68. Karlsson, A., Enfaelt, A. C., Essen-Gustavsson, B., Lundstroem, K., Rydhmer, L., Stern, S., 1993. Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *Journal of Animal Science*, 71: 930-938.
69. Karlsson, A., Klont, R. E., Fernandez, X., 1999. Skeletal Muscle Fibres as Factors for Pork Quality. *Livestock Production Science*, 60: 255-269.
70. Kirchofer, K., Calkins, R., Gwarteny, B., 2002. Fiber-type composition of muscles of the beef chuck and round. *J. Anim. Sci.*, 80: 2872-2878.
71. Klindt, J., Yen, J. T., Buonomo, F. C., Roberts, A. J., Wise, T., 1998. Growth, Body Composition, and Endocrine Responses to Chronic Administration of Insulin-Like Growth Factor I and (or) Porcine Growth Hormone in Pigs. *J. Anim. Sci.*, 76: 2368-2381.
72. Klont, R. E., Brocks, L., Eikelenboom, G., 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, 49: 219-221.
73. Kłosowska, D., Fiedler, I., 2003. Muscle fiber types in pigs of different genotypes in relation to meat quality. *Animal Science papers and Reports*, 21: 49-60
74. Knizetzova, H., Knize, B., Kopezny, V., Fulka, J., 1972. Concentration of nuclei in chicken muscle fibre in relation to the intensity of growth. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 12: 321-328.

75. Komi, P.V., Karlsson, J., 1979. Physical performance, skeletal muscle enzyme activities, and fibre types in monozygous and dizygous twins of both sexes. *Acta Physiol. Scand.*, 462: 1-28.
76. Kosovac, O., Stanišić, N., Živković, B., Radović, Č., Pejčić, S., 2008. Kvalitet trupa i mesa svinja različitih genotipova. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 24, 1-2: 77-86.
77. Kuhn, G., Hennig, U., Kalbe, C., Rehfeldt, C., Ren, M.Q., Moors, S., Degen, G.H., 2004. Growth performance, carcass characteristics and bioavailability of isoflavones in pigs fed soybean based diets. *Archives of Animal Nutrition* 58: 265-276.
78. Kuhn, G., Kanitz, E., Tuchscherer, M., Nuernberg, G., Hartung, M., Ender, K., Rehfeldt, C., 2004. Growth and carcass quality of offspring in response to porcine somatotropin (pST) treatment of sows during early pregnancy. *Livestock Prod. Science*, 85: 103-112.
79. Kuiper, G. G. J. M., Enmark, E., Pelto-Huikko, M., Nilsson, S., Gustaffson, J. A., 1996a. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93: 5925-5930.
80. Kuiper, G. G. J. M., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Hagglad, J., Nilsson, S., Gustaffson, J. A., 1996b. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogenic receptors α and β . *Endocrinology*, 138: 863-870.
81. Kuiper, G. G. J. M., Lemmen, J. G., Carlsson, B., Corton, J. C., Safe, H. S., Van Der Saag, P. T., Van Der Burg, B., Gustaffson, J. A., 1998. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β . *Endocrinology*, 139: 4252-4263.
82. Larzul, C., Lefaucheur, L., Ecolan, P., Gogue, J., Talmant, A., Sellier, P., Monin, G., 1997. Phenotypic and genetic parameters for Longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass and meat quality traits in Large White pigs. *Journal of Animal Science*, 75: 3126-3137.
83. Lee, C. Y., Ha, S. H., Baik, K. H., Sohn, S. H., Park, B. C., Park, M. J., 2005. Effects of estradiol implantation on growth, carcass traits and circulating

- concentrations of insulin like growth factors (IGFs) and IGF-binding protein-3 in finishing barrows. *Livestock Prod. Sci.*, 96: 149-155.
84. Lefaucheur, L. A., 1989. Influence d'une restriction alimentaire sur la composition de la carcasse et quelques caractéristiques musculaires chez le porc. D. E. A. thesis, University of Clermont II, Clermont-Ferrand, France
 85. Lefaucheur, L. A., 1990. Changes in muscle fiber populations and muscle enzyme activities in the primiparous lactating sow. *Reprod. Nutr. Dev.*, 30: 523-531.
 86. Lefaucheur, L., Hoffman, R. K., Gerrard, D. E., Okamura, C. S., Rubinstein, N., Kelly, A., 1998. Evidence for Three Adult Fast Myosin Heavy Chain Isoforms in Type II Skeletal Muscle Fibers in Pigs. *Journal of Animal Science*, 76: 1584-1593.
 87. Lefaucheur, L., Gerrard, D., 2000. Muscle fiber plasticity in farm mammals. *Journal of Animal Science*, 77: 1-19.
 88. Lefaucheur, L., Ecolan P., Barzic, Y., Marion, J., Dividich, J., 2003. Early postnatal food intake alters myofiber maturation in pig skeletal muscle. *Journal of Nutrition*, 133: 140-147
 89. Lefaucheur, L., Milan, D., Ecolan, P., Le Callennec, C., 2004. Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and Meishan pigs. *Journal of Animal Science*, 82: 1931-1941.
 90. Lengerken, G., Wicke, M., Maak, S., 1997. Stress susceptibility and meat-quality situation and prospects in animal breeding and research. *Arch. Anim. Breed.*, 40 (suppl.): 163-171.
 91. Liu, G. T., Zheng, Y. L., Chen, W. H., Chen, J., Han, Z. K., 1999. Effect of daidzein fed to pregnant sows on milk production and the levels of hormones in colostrums. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 22: 69-72.
 92. Locknisar, F., Holcman, A., Zagoren, F., 1980. Muscle fiber investigations in poultry. *Zbornik Biotehniske Fakultete Universe v Ljubljani Kmetijstvo (Zivinoreja)*, 35: 7-24
 93. Lossec, G., Ecolan, P., Herpin, P., Lefaucheur, L., 1998. Influence of environmental temperature on maturation of skeletal muscle during the early postnatal period in pig. *J. Anim. Sci.*, 76 (Suppl. 1): 132 (abstr.)

94. Lyons, G. E., Kelly, A. M., Rubinstein, N., 1986. Testosterone-induced changes in contractile protein isoforms in the sexually dimorphic temporalis muscle of guinea pigs. *J. Biol. Chem.*, 261: 13278-13284.
95. Maltin, C. A., Warkup, C. C., Matthews, K. R., Grant, C. M., Porter, A. D., Delday, M. I., 1997. Pig muscle fibre characteristics as a source of variation in eating quality. *Meat Science*, 47: 237-248.
96. Mascarello, F., Stecchini, M. L., Rowlerson, A. and Ballocchi, E. (1992) Tertiary myotubes in postnatal growing pig muscle detected by their myosin isoform composition. *Journal of Animal Science* 70, 1806–1813.
97. Mathews, L. S., Hammer, R. E., Behringer, R. R., D'Ercole, A. J., Bell, G. I., Brisnter, R. L., Palmiter, R. D., 1988. Growth enhancement of transgenic mice expressing human insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, 123: 2827-2833.
98. Mau, M., Kalbe, C., Viergutz, T., Nuernberg, G., Rehfeldt, C., 2008. Effects of Dietary Isoflavones on Proliferation and DNA Integrity of Myoblasts Derived from Newborn Piglets. *Pediatric Research*, 63: 39-45.
99. Mauro, A., 1961. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 9: 493-495.
100. McCall, G. E., Allen, D. L., Linderman, J. L., Grindeland, R.E., Roy, R. R., Mukku, V. R., Edgerton, V. R., 1998. Maintenance of myonuclear domain size in rat soleus after overload and growth hormone/IGF I treatment. *J. Appl. Physiol.*, 84: 1407-1412.
101. McPherron, A.C., Lee, S. J., 1997. Double muscling in cattle due to mutations in myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 12457-12461.
102. Muscat, G. E., Downes, M., Dowhan, D., 1995. Regulation of vertebrate muscle differentiation by thyroid hormone: the role of the MyoD gene family. *Bioessays* 17: 211-218.
103. Nakamura T., Masui, S., Wada, M., Kotoh, H., Mikami, H., Katsuta, S., 1993. Heredity of muscle fibre type composition estimated from a selection experiment in rats. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 66: 85-89.
104. Nikolić, Z., Vitorović, D., 1998. Muscle growth in light and heavy type of chickens. *Acta Veterinaria*, vol.48, No. 5-6, 303-308.

105. Nissen, P.M., Danielsen, V. O., Jorgensen, P.F., Oksbjerg, N., 2003. Increased maternal nutrition of sows has no beneficial effects on muscle fiber number or postnatal growth and has no impact on the meat quality of the offspring. *Journal of Animal Science*, 81: 67-76.
106. Nissen, P. M., Jorgensen, P. F., Oksbjerg, N., 2004. Within-litter variation in muscle fibre characteristics, pig performance and meat quality traits. *Journal of Animal Science*, 82: 414-421.
107. Novikoff, A. B., Shin, W., Drucker, J., 1961: Mitochondrial localization of oxidative enzymes staining results with two tetrazolium salts. *Journal of Biophysics Biochemistry and Cytology*, 9: 47-61.
108. Ontell, M., Kozeka, K., 1984. Organogenesis of the mouse extensor digitorum longus muscle: a quantitative study. *American Journal of Anatomy*, 171: 149-161.
109. Osterc, J., 1974. Diameter and number of muscle fibers in *musculus longissimus dorsi* in connection with production properties of some cattle breeds. PhD Thesis, University of Ljubljana, pp 1-67.
110. Owens, P. C., Gatford, K. L., Walton, P. E., Morley, W., Campbell, R. G., 1999. The Relationship Between Endogenous Insulin-like Growth Factors and Growth in Pigs. *J. Anim. Sci.*, 77: 2098-2103.
111. Payne, R. L., Bidner, T. D., Southern, L. L., Geaghan, J. P., 2001. Effects of dietary soy isoflavones on growth, carcass traits and meat quality in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, 79: 1230-1239.
112. Petersen, J. S., Henckel, P., Oksbjerg, N., Sorensen, M. T., 1998. Adaptations in muscle fiber characteristics induced by physical activity in pigs. *Animal Science*, 66: 733-740.
113. Petrović, M., Radojković, D., Mijatović, M., 2005. Current condition in pig production and potentials for development. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 21: 155-159.
114. Perre, M. C., Etienne, M., 2000. Uterine blood flow in sows: Effects of pregnancy stage and litter size. *Reproduction, Nutrition, Development*, 40: 369-382.
115. Pette, D., Staron, R. S., 2000. Myosin isoforms, Muscle Fibre Types, and Transitions. *Microscopy Research and Technique*, 50: 500-509.

116. Picard, B., Lefaucheur, L., Berri, C., Duclos M., 2002. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reproduction Nutrition Development*, 42, 415-431.
117. Poleksić, V., Bogojević, J., Marković, Z., Dulić Stojanović, Z., 2003. *Zoologija*. Poljoprivredni fakultet. Beograd
118. Quiniou, N., Dagorn, J., Gaudre, D., 2002. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livestock Production Science*, 78: 63-70.
119. Rahelic, S., Puac, S., 1981. Fiber types in longissimus dorsi from wild and highly selected pig breeds. *Meat Science*, 5: 439-450.
120. Rede, R., Pribisch, V., Rahelic, S., 1986. Untersuchungen ueber die Beschaffenheit von Schlachttierkoerpern und Fleisch primitiver und hochselektierter Schweinerassen. *Fleischwirtsch.*, 66: 898.
121. Reggiani, C., Mascarello, F., 2004: Fibre type identification and functional characterization in adult livestock animals. *Muscle Development of Livestock Animals – Physiology, Genetics and Meat Quality*. CABI Publishing, 39-68.
122. Rehfeldt, C., Fiedler, I., Wegner, J., 1987: Veraenderungen der Mikrostruktur des Muskelgewebes bei Labormaeusen, Rindern und Schweinen waehrend des Wachshtums. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 101: 669-680.
123. Rehfeldt, C., Buenger, L., Dietl, G., Fiedler, I., Wegner, J., 1988. On the heritability of muscle structure in response to selection for growth and fitness-studies on laboratory mice. *Arch. Anim. Breed.*, 5: 465-475.
124. Rehfeldt, C., Fiedler, I., Weikard, R., Kanitz, E., Ender, K., 1993. It is possible to increase skeletal muscle fibre number in utero. *Biosci. Rep.*, 13: 213-220.
125. Rehfeldt, C., Stickland, N. C., Fiedler, I., Wegner, J., 1999. Environmental and genetic factors as sources of variation in skeletal muscle fibre number. *Basic Appl. Myol.* 9 (5): 235-253.
126. Rehfledt, C., Fiedler, I., Dietl, G., Ender, K., 2000: Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection. *Livestock Production Science*, 66: 177-188.
127. Rehfeldt, C., Kuhn, G., Vanselow, J., Fuerbass, R., Fiedler, I., Nuernberg, G., Clelland, C. A., Stickland, N. C., Ender, K., 2001a. Maternal treatment with

- somatotropin during early gestation affects basic events of myogenesis in pigs. *Cell Tissue Res.*, 306: 429-440.
128. Rehfeldt, C., Kuhn, G., Nuernberg, G., Kanitz, E., Schneiders, F., Beyer, M., Nuernberg, K., Ender, K., 2001b. Effects of exogenous somatotropin during early gestation on maternal performance, fetal growth, and compositional traits in pigs. *J. Anim. Sci.*, 79: 1789-1799.
129. Rehfeldt, C., Kuhn, G., 2006. Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. *J. Anim. Sci.*, 84: 113-124.
130. Rehfeldt, C., Henning, M., Fiedler, I., 2008. Consequences of pig domestication for skeletal muscle growth and cellularity. *Livestock Science*, 116: 30-41.
131. Rehfeldt, C., Kalbe, C., Nuernberg, G., Mau, M., 2009. Dose-Dependant Effects of Genistein and Daidzein on Protein Metabolism in Porcine Myotube Cultures. *J. Agric. Food. Chem.* 57, 852-857.
132. Rehfeldt, C., Lefaucheur, L., Block, J., Stabenow, B., Pfuhl, R., Otten, W., Metges, C., Kalbe, C., 2012. Limited and excess protein intake of pregnant gilts differently affects body composition and cellularity of skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue of newborn and weanling piglets. *European Journal of Nutrition*, 51: 151-165.
133. Reinli, K., Block, G., 1996. Phytoestrogen content of foods – compendium of literature values. *Nutr. Cancer*, 26: 123-148.
134. Rempel, L. A., Clapper, J. A., 2002. Administration of estradiol-17beta increases anterior pituitary IGF-I and relative amounts of serum and anterior pituitary IGF-binding proteins in barrows. *Journal of Animal Science*, 80: 214-224.
135. Ren, M. Q., Kuhn, G., Wegner, J., Chen, J., 2001. Review: Isoflavones, substances with multi-biological and clinical properties. *Eur. J. Nutr.*, 40: 135-146.
136. Romeis, B., 1989. *Mikroskopische Technik*. P. BÖCK (Ed.), Urban & Schwarzenberg (696pp), München.
137. Ross, M. H., Pawlina, W., 2006. *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology*. Lippincott Williams & Wilkins, Fifth Edition.

138. Rosser, B. W. C., Bandman, E., 2003. Heterogeneity of protein expression within muscle fibers. *Journal of Animal Science*, 81: 94-101.
139. Rowe, R. W. E., Goldspink, G., 1969. Muscle fibre growth in five different muscle in both sexes of mice. *Journal of Anatomy*, 104: 519-530.
140. Sazil, A., Parr, T., Sensky, P., Jones, S., Bardsley, R., Butterly, P., 2005. The relationship between slow and fast myosin heavy chain content, calpastatin and meat tenderness in different ovine skeletal muscle. *Meat Science*, 69,1,17-25.
141. Schiaffino, S., Reggiani, C., 1994. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 77: 493-501.
142. Schiaffino, S., Reggiani, C., 1996. Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.*, 76: 371-423.
143. Setchell, K. D. R., Cassidy, A., 1999. Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *Journal of Nutrition*, 129: 758-767.
144. Setchell, K., 1998. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology and implications for human health of soy isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68: 1333-1346.
145. Solomon, M. B. , Moody, W. G., Kemp, J. D., Ely, D. G., 1981. Effect of breed, slaughter weight and sex on histological properties of ovine muscle. *Journal of Animal Science*, 52: 1019-1025.
146. Solomon, M. B., West, R. L., 1985. Profile of fiber types in muscles from wild pigs native to the United States. *Meat Science*, 13: 247-254.
147. Solomon, B., Dunn, C., 1988. Simultaneous histochemical determination of three fiber types in single section of ovine, bovine and porcine skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 66: 255-264.
148. Sosnicki, A. A., Pommier, S., Klont, E. R., Newman, S., Plastow, G., 2003. Best-cost production of high quality pork: Bridging the gap between pig genetics, muscle biology/meat science and consumer trends. *Proceedings of Manitoba Pork Seminar*.
149. Sosnicki, A. A., Newman, S., 2010. The support of meat value chains by genetic technologies. *Meat Science*, 86: 129-137.
150. Stamenković, T., Milićević, D., Dević, B., 2008. Proizvodnja svinjskog mesa u svetu i njene tendencije. *Tehnologija mesa* 49, 1-2: 67-72.

151. Staun, H., 1963. Various factors affecting number and size of muscle fiber in the pig. *Acta Agric. Scand.*, 13: 293-322.
152. Staun, H., 1972. The nutritional and genetic influence on number and size of muscle fibres and their response to carcass quality in pigs. *World Rev. Anim. Prod.*, 8: 18-26.
153. Stickland, N. C., Handel, S. E., 1986. The number and types of muscle fibers in large and small breeds of pigs. *Journal of Anatomy*. 147: 181-189.
154. Szentkuti, L., Schlegel, O., 1985. Genetic and functional influences on fibre type proportions and fibre diameter in *m. longissimus dorsi* and *m. semitendinosus* of pigs. Studies on trained domestic pigs and restrained wild type pigs. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, 92: 93-97.
155. Swatland, H. J., Cassens, R. G., 1973. Prenatal development, histochemistry and innervation of porcine muscle. *Journal of Animal Science* 36:343-354.
156. Te Paas, M. F. W., Everts, M. E., Haagsman, H. P., 2004. Muscle Development of Livestock Animals. Physiology, Genetics and Meat Quality. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK.
157. Tham, D.M., Gardner, C. D., Haskell W. L., 1998. Potential Health Benefits of Dietary Phytoestrogens: A Review of the Clinical, Epidemiological and Mechanistic Evidence. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83: 2223-2235.
158. Thomas, M., Langley, B., Berry, C., Sharma, M., Kirk, S., Bass, J., Kambadur, R., 2000. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *The Journal of Biological Chemistry*, vol 275, No 51: 40235-40243.
159. Town, S., Putman, C., Turchinsky, N., Dixon, W., Foxroft, G., 2004. Number of conceptuses *in utero* affects porcine fetal muscle development. *Reproduction*, 128, 443-454.
160. Tsai, W. J. A., McCormick, K. M., Brazeau, D. A., Brazeau, G. A., 2007. Estrogen Effects on Skeletal Muscle Insulin-Like Growth Factor 1 and Myostatin in Ovariectomized Rats. *Exp. Biol. Med.*, 232: 1314-1325.

161. Tunell, G., Hart, M. N., 1977. Simultaneus Determination of Skeletal Muscle Fiber, Types I, IIA and IIB by Histochemistry. *Archives of Neurology*, 34: 171-173.
162. Ušćebrka, G., Stojanović, S., Žikić, D., Kanački, Z., 2008. Morfodynamics of skeletal musculature of birds. *Savremena poljoprivreda*, 57, 1-2, 44-50.
163. Van der Wal P.G., De Vries, A. G., Eikelenboom, G., 1995. Predictive value of slaughterhouse measurements of ultimate pork quality in seven halothane negative Yorkshire populations. *Meat Science* 40, 183-191.
164. Velotto, S., Vitale, C., Stassi, T., Crasto, A., 2010. New Insights into Muscle Fibre Types in Casertana Pig. *Acta Vet. Brno*, 79: 169-176.
165. Wegner, J., Albrecht, E., Fiedler, I., Teuscher, F., Papstein, H. J., Ender, K., 2000. Growth and breed related changes of muscle fibre characteristics in cattle. *Journal of Animal Science*, 78: 1485-1496.
166. Weiss, A., Leinwand, L., 1996. The mammalian myosin heavy chain gene family. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 12: 417-439.
167. Wicke, M., 1989. Influences of a divergent selection for muscle structure characteristics of m. longissimus dorsi on stress susceptibility and carcass quality in pigs. PhD Thesis, University of Leipzig, Germany, pp 1-115.
168. Wicke, M., Lengerken, G., Fiedler, I., Altmann, M., Ender, K., 1991. Effects of selection for muscle structure characteristics of m. longissimus dorsi on stress susceptibility and meat quality in pigs. *Fleischwirtschaft*, 71: 437-442.
169. Wigmore, P. M., Stickland, N. C., 1983. Muscle development in large and small pig fetuses. *Journal of Anatomy*. 137: 235-245.
170. Wiik, A., Ekman, M., Johansson, O., Jansson, E., Esbjornsson, M., 2009. Expression of both oestrogen receptor alpha and beta in human skeletal muscle tissue. *Histochem. Cell Biol.*, 131: 181-189.
171. Williams, P., Goldspink, G., 1971. Longitudinal growth of striated muscle fibers. *J. Cell Sci.*, 9: 751-767.
172. Zhu, M. J., Ford, S. P., Means, W. J., Hess, B. W., Nathanielsz, P. W., Du, M., 2006. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *J. Physiol.* 575: 241-250.

173. Zochowska, J., Lachowicz, K., Gajowiecki, L., Sobzak, M., Kotowicz, M., Zych, A., 2005. Effect of carcass weight and muscle on texture and myofibrile characteristics of wild boar meat. Meat Science 71, 244-248.

<http://poljoprivreda.info/?oid=6&id=666>

http://training.seer.cancer.gov/images/anatomy/muscular/muscle_structure.jpg

http://1.bp.blogspot.com/_1MW6Tajv9y0/S-dn2Wi2sDI/AAAAAAA4/TwyE6a74DYM/s400/muscle.gif

http://www.amtimaging.com/www11/src_gallery/gallery_2012/xr16m_2012/041_striatedmuscle.jpg

http://www.sciencephoto.com/image/303273/large/P1550028-Primate_Skeletal_Muscle-SPL.jpg

http://www.bionatology.com/skeletal_system_files/image002.jpg

http://www.occupyforanimals.org/uploads/7/7/3/5/7735203/9149001_orig.jpg

8. Biografija autora

Ivana Adamović rođena je 1976. godine u Beogradu. Završila je Poljoprivredni fakultet, Odsek za stočarstvo 2000. godine, sa prosečnom ocenom u toku studija 9,17. Boravila je na stručnoj praksi u Norveškoj 1999. i 2001. godine. Upisala je poslediplomske studije na Poljoprivrednom fakultetu 2000. godine na grupi Fiziologija i ishrana domaćih životinja. U skladu sa reformom studija prema Bolonjskoj konvenciji, sa magistarskih studija upisala se na doktorske studije, studijski program Zootehnika, školske godine 2006/2007. Tokom studija bila stipendista Republičke Fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka (1997/98), stipendista Srpske Akademije Nauka i Umetnosti (1998-2001). Septembra 2000. godine bila među 1000 dobitnika stipendije "*Stipend for the Promising Generation*" koju je dodeljivala ambasada Kraljevine Norveške.

Od 1.10.2001. godine zaposlena kao asistent na predmetu Anatomija domaćih i gajenih životinja, na odseku za Zootehniku, Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. U toku oktobra 2002., a zatim januara i februara 2004. godine boravi na "Institute for the Biology of Farm Animals, Department of Muscle Biology and Growth", Dummerstorf, Nemačka, radi stručnog usavršavanja iz oblasti mikrostrukture mišića i kvaliteta mesa svinja.

Koautor je 20 radova objavljenih u domaćim i stranim naučnim časopisima, od kojih su tri rada iz grupe M20. Tečno govori engleski jezik, služi se nemačkim jezikom.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Ивана Д. Адамовић

Број индекса или пријаве докторске дисертације 06/30

Изјављујем

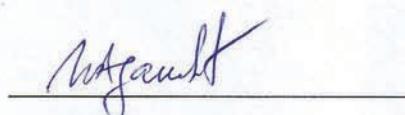
да је докторска дисертација под насловом:

„Утицај додавања даидзеина у храну супрасних крмача на раст и развој мишићног ткива потомства“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена докторска дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанта

У Београду, децембар 2012. године



Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторске дисертације**

Име и презиме аутора Ивана Д. Адамовић

Број индекса или пријаве докторске дисертације 06/30

Студијски програм Зоотехника

Наслов докторске дисертације „Утицај додавања даидзеина у храну супрасних крмача на раст и развој мишићног ткива потомства“

Ментор Проф. др Душко Виторовић

Потписани/а Ивана Д. Адамовић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског званија доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада. Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанта

У Београду, децембар 2012. године



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Утицај додавања даидзеина у храну супрасних крмача на раст и развој мишићног ткива потомства“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

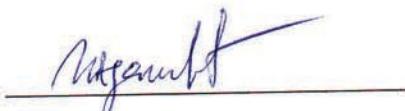
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на крају).

Потпис докторанта

У Београду, децембар 2012. године



1. Ауторство - Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцима, односно лиценцима отвореног кода.