

## **ESTUDIO HISTOQUÍMICO DE LA MUSCULATURA LATERAL DE LA CARPA (*Cyprinus Carpio*) (1989)**

### **Histochemical study of the lateral muscle of the Carp (*Cyprinus carpio*)**

**Ramírez Zarzosa, G.; Gil, F.; Moreno, F.; Vázquez, J. M.<sup>a</sup> y Latorre, R.**

Departamento de Anatomía y Embriología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

Recibido: 21 abril 1989  
Aceptado: 3 noviembre 1989

#### **RESUMEN**

Mediante técnicas histoenzimáticas se analizan las características histoquímicas y morfológicas de la musculatura lateral de la carpa (*Cyprinus carpio*) identificándose los distintos tipos de fibras. Se ha constatado la existencia de un músculo rojo superficial integrado por fibras de alta y baja actividad mATPasa, un músculo blanco profundo con fibras en modelo de mosaico y un músculo rosa donde las características histoquímicas y morfológicas de los tipos de fibras que lo integran son muy variables.

*Palabras clave:* Músculo, Tipos de fibras, mATPasa, Teleósteo.

#### **SUMMARY**

By means of the histoenzymological techniques the histochemical and morphological characteristics of the lateral muscle of carp (*Cyprinus carpio*) were analysed; it has been identified different fiber types. We have observed the presence of the superficial red muscle formed by fiber of high and low mATPase activity, a deep white muscle shaped at the mosaic pattern and a pink muscle where the histochemical and morphological characteristics of the fiber types are so variables.

*Key words:* Muscle, Fiber types, mATPase, Teleost.

## INTRODUCCIÓN

Las fibras que integran la musculatura esquelética axial de los peces teleósteos se agrupan en tres estratos, definidos como músculos rojo (superficial), blanco (profundo) y rosa (intermedio). Las propiedades histoquímicas de las mismas se han tratado de concretar durante los últimos años mediante el empleo de las técnicas histoenzimáticas que se venían aplicando sobre la musculatura esquelética de los mamíferos. De esta forma, y de un modo general, se define a las fibras rojas como fibras de alta actividad oxidativa y de baja actividad mATPasa miosínica (mATPasa), siendo utilizadas por el pez durante los movimientos sostenidos lentos. Por el contrario, las fibras blancas son pobres en enzimas oxidativas, tienen una actividad mATPasa alta y son utilizadas durante los movimientos rápidos (AKSTER/OSSE, 1978). Las fibras del músculo rosa presentan características intermedias con respecto a las del músculo rojo y blanco (AKTER/OSSE, 1978; MASCARELLO et al., 1986) y se disponen entre éstos, con tamaños muy variables, por lo que se cree que constituyen zonas de músculo en continuo crecimiento (NAG, 1972; MASCARELLO et al., 1986).

Sin embargo, oportunas modificaciones realizadas a los métodos de detección de mATPasa (ROWLERSON et al., 1985; MASCARELLO et al., 1986), han permitido la distinción de nuevos tipos fibrilares y se ha profundizado en el conocimiento de las propiedades histoquímicas de las mismas. A pesar de ello, aún siguen siendo numerosas las contradicciones que existen cuando se analiza la musculatura esquelética de los peces teleósteos con este tipo de técnicas, siendo factor influyente el pH de los medios de preincubación (AKSTER/OSSE, 1978; BARENDS, 1978; KORNELIUSSEN et al., 1978), además de las variaciones propias interespecíficas (CARPENE et al., 1982).

Nuestra intención con este trabajo es definir las características histoquímicas de los distintos

tipos de fibras que componen la musculatura lateral de la carpa (*Cyprinus carpio*) mediante técnicas oxidativas y de mATPasa, empleando un método reciente sugerido por MASCARELLO et al., (1986), deseando que los resultados obtenidos sirvan para enriquecer los conocimientos acerca de la histoquímica muscular aplicada a los peces teleósteos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el trabajo se utilizaron 6 carpas (*Cyprinus carpio*) en estado adulto (7-10 cm de longitud), obteniendo cada una de ellas una muestra de la musculatura a nivel de la línea lateral.

Las muestras tras ser congeladas en 2-metilbutano, previamente enfriado a  $-160^{\circ}\text{C}$  mediante contacto con nitrógeno líquido (DUBOWITZ/BROOKE, 1973) fueron cortadas en criostato a  $-20^{\circ}\text{C}$ , oscilando el grosor de los cortes entre 8 y 12 micras. Las secciones obtenidas fueron sometidas a técnicas histoenzimáticas referidas a la detección de enzimas oxidativos (NADH-TR; metodología propuesta por DOBOWITZ/BROOKE, 1973) y de ATPasa miosínica (mATPasa) empleando el método "A" descrito por SNOW et al., (1982) y modificado por MASCARELLO et al., (1986). Dichas modificaciones consisten en las siguientes:

### Preincubación ácida:

Solución preincubadora: tampón acetato sódico 0,1 M, ajustando el pH a 4,6, 4,55 y 4,4 con ácido acético.

Tiempo de preincubación: 1 minuto.

Temperatura de preincubación:  $20^{\circ}\text{C}$ .

### Preincubación alcalina:

Solución preincubadora: solución de barbital sódico 0,075 M, acetato sódico 0,07 M, y Cloruro de calcio 0,1 M, ajustando el pH a 10,5, 10,4, 10,3 y 10,2 con hidróxido sódico.

Tiempo de preincubación: 7 minutos.  
Temperatura de preincubación: 20°C.

Tras las preincubaciones, las secciones fueron incubadas a temperatura de laboratorio (20 a 22°C) durante 60 minutos (tras preincubación ácida) y 30 minutos (tras preincubación alcalina) en la misma solución de la preincubación alcalina, pero añadiendo 1,5 mgr de Na<sub>2</sub>ATP por ml de solución y ajustando el pH a 9,4.

## RESULTADOS

El músculo rojo de la carpa se compone casi de forma exclusiva de fibras pequeñas cuya mATPasa es alcalino y ácido lábil (Fig. 1). Sin embargo, en las zonas más profundas de este músculo, próximas a la musculatura rosa es posible evidenciar algunas fibras cuya mATPasa se presenta como alcalino y ácido estable (Fig. 2). Ambas son fibras de metabolismo oxidativo (Fig. 3).

La musculatura rosa presenta un notable desarrollo, infiltrándose hacia el músculo blanco, y con una gran variedad de tipos fibrilares (Fig. 1). Atendiendo a su morfología, las dividimos en grandes, y pequeñas. Las técnicas de mATPasa ponen de manifiesto, que entre las grandes, existen fibras de mATPasa alcalino y ácido estable y alcalino y ácido lábiles (Fig. 4). Las pequeñas, son de forma exclusiva alcalino y ácido estables (Fig. 5). La actividad oxidativa, es intermedia para todas estas fibras (Fig. 3).

## DISCUSIÓN

La mayor parte de las fibras que integran el músculo rojo de la carpa se caracterizan por ser de alta actividad oxidativa y tener un mATPasa alcalino y ácido lábil, tal como ya indicaron ROWLERSON et al., (1985). Sin embargo, la presencia de fibras con mATPasa alcalino y ácido estable no ha sido advertida por dichos

autores en esta especie, aunque sí por AKSTER et al., (1978) en la perca (*Perca fluviatilis*), CARPENE et al., (1982) en el guppy (*Lebistes reticulatus*) y por MOSSE et al., (1977) en el "Cobbler" (*Gymnapistes marmoratus*).

La musculatura rosa de la especie sometida a estudio se caracteriza por su gran desarrollo, quedando integrada por fibras de distinto tamaño y de mATPasa alcalino/ácido estable y alcalino/ácido lábil como explican SCAPOLLO et al., (1987). ROWLERSON et al., (1985) definen a las fibras del músculo rosa de la carpa como moderadamente alcalino estables y ácido lábiles, por lo que nuevamente discrepamos con sus resultados. Sin embargo, estudios recientes (MASCARELLO et al., 1986) consideran al músculo rosa como un estrato muscular de transición hacia el blanco, de forma tal, que las fibras que integran esta musculatura van variando de forma progresiva su actividad mATPasa a medida que se aproximan al músculo blanco, terminando por adquirir sus características, lo que podría explicar la heterogeneidad fibrilar observada en el músculo rosa de la carpa en el presente estudio.

En el músculo blanco, las fibras son de mayor tamaño, distribuyéndose en modelo de mosaico (fibras de mATPasa moderadamente alcalino/ácido estable, y alcalino/ácido lábiles). Esta circunstancia, ha sido apreciada también por ROWLERSON et al., (1985) en esta especie, si bien las propiedades histoquímicas de las fibras difieren un tanto de las evidenciadas en nuestro estudio.

Creemos que todas estas discrepancias guardan relación directa con el estadio de crecimiento, factores nutritivos y temperatura. Sin embargo, dada la gran variedad de tipos fibrilares descritos en el presente trabajo con el método propuesto por MASCARELLO et al., (1986), pensamos que el mismo resulta adecuado para el estudio histoquímico de la musculatura lateral de la carpa.

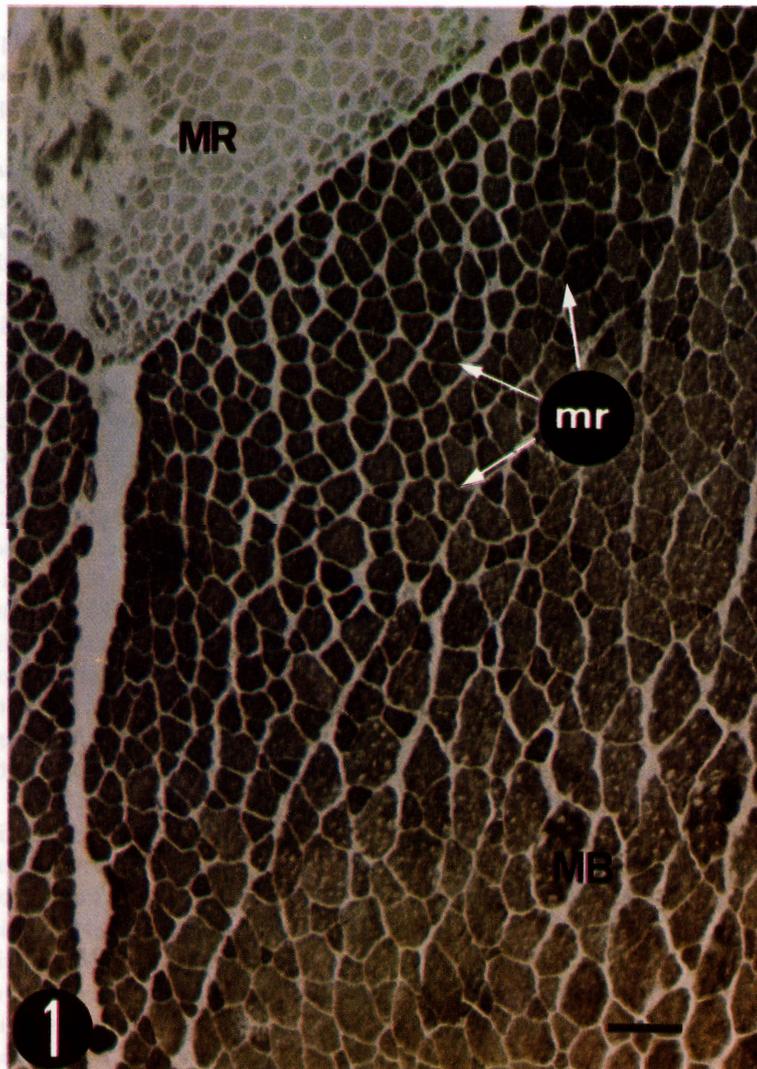
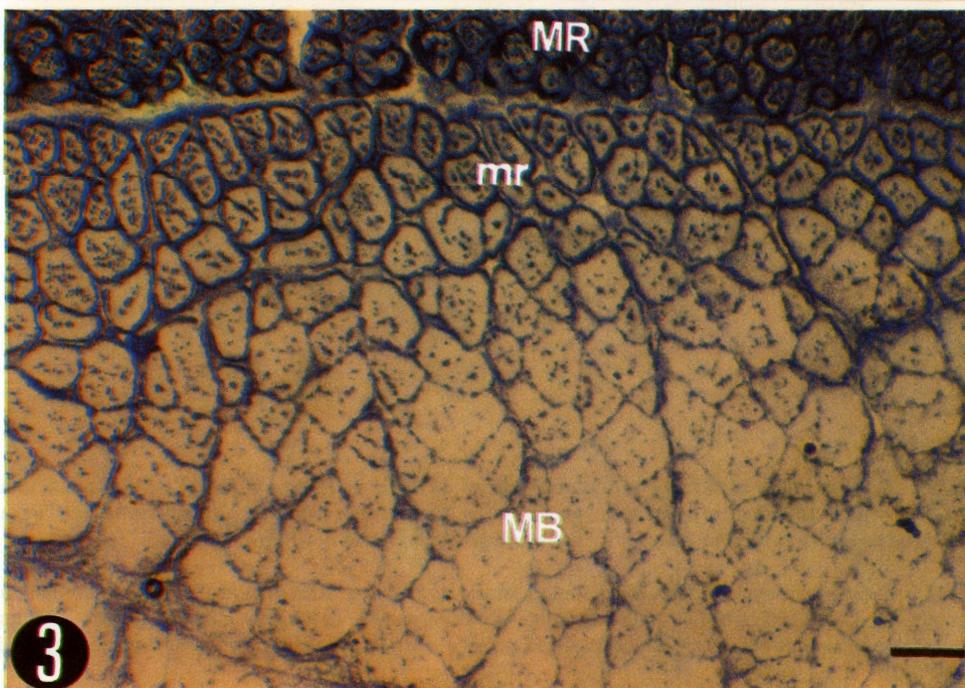
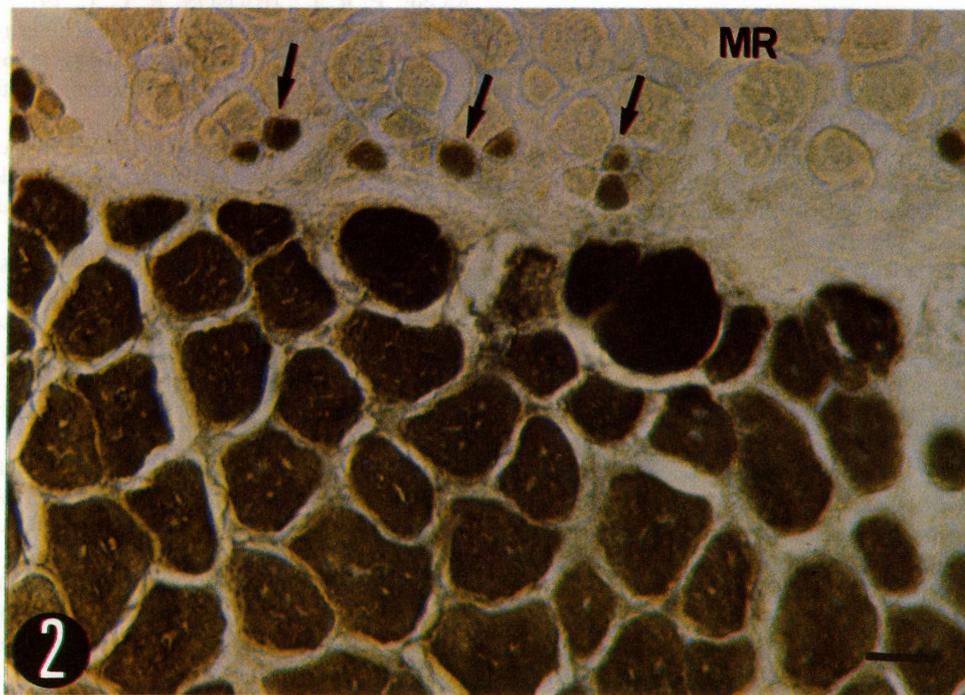


FIGURA 1. Sección transversal de la musculatura lateral de la carpa. Reacción mATPasa sin preincubación (pH 9,4).

MR = Músculo Rojo, mr = Músculo Rosa, MB = Músculo Blanco. Las fibras se disponen en tres estratos musculares bien definidos. Rojo superficial (MR), Rosa intermedio (mr) y Blanco profundo (MB). El músculo rojo lo integran principalmente fibras de mATPasa alcalino y ácido lábil. Barra = 80  $\mu$ m.

FIGURA 2. Sección transversal de la musculatura lateral de la carpa. Reacción mATPasa con preincubación alcalina a pH 10,5. Las flechas señalan la presencia de fibras rojas (MR), próximas a la musculatura rosa, de alta actividad mATPasa. Barra = 20  $\mu$ m.

FIGURA 3. Sección transversal de la musculatura de la carpa. Reacción oxidativa NADH-TR. La actividad oxidativa es alta para las fibras rojas (MR), media para las fibras rosas (mr) y baja para las fibras blancas (MB). Barra = 40  $\mu$ m.



## BIBLIOGRAFÍA

- AKSTER, H. A.; OSSE, J. W. M. 1978. Muscle fibre types of the *Perca fluviatilis* (L), Teleostei: A histochemical and electromyographical study. *Neth. J. Zool.* 28 (1): 94-110.
- BARENDS, P. M. G. 1978. The relation between fiber type composition and function in the jaw adductor muscle of the perch (*Perca fluviatilis* L.). A histochemical study. *Akad. Wentensch. C* 82(2): 147-164.
- CARPENE, E.; VEGGETTI, A.; MASCARELLO, F. 1982. Histochemical fibre types in the lateral muscle of fishes in fresh, brackish and salt water. *J. Fish Biol.* 20: 379-396.
- DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. H. 1973. Muscle biopsy: A modern approach. W. B. Saunders, London.
- KORNELIUSSEN H.; GRAY, E. G. 1978. On T-tubule openings at the sarcolemma of white fast-twitch muscle fibres in fish and frog. *Cell Tiss. Res.*, 188: 265-272.
- MASCARELLO, F.; ROMANELLO, M. G.; SCAPOLLO, P. A. 1986. Histochemical and immunohistochemical profile of pink muscle fibres in some teleosts. *Histochemistry* 84: 251-255.
- MOSE, P. R. L.; HUDSON, R. C. L. 1977. The functional roles of different muscle fibre types identified in the myotomes of marine teleost: a behavioural, anatomical and histochemical study. *J. Fish Biol.* 11: 417-430.
- NAG, A. C. 1972. Ultrastructure and adenosine triphosphatase activity of red and white muscle fibers of the caudal region of a fish. *Salmo gairdneri*, *J. Cell Biol.* 55: 42-57.
- ROWLERSON A.; SCAPOLLO, P. A.; MASCARELLO, F.; CARPENE, E.; VEGGETTI, A. 1985. Comparative study of myosins present in the lateral muscle of some species variations in myosin isoforms and their distribution in red, pink and white muscle. *J. Muscle Res. Cell Motility* 6: 601-640.
- SCAPOLLO, P. A.; ROWLERSON A. 1987. Pink lateral muscle in the carp (*Cyprinus carpio*): histochemical properties and myosin composition. *Experientia* 43: 384-386.
- SNOW, D. H.; BILLETER, R.; MASCARELLO, F.; CARPENE, E.; ROWLERSON, A.; JENNY, E. 1982. No classical type IIB fibres in dog skeletal muscle. *Histochemistry* 75: 53-65.

FIGURA 4. Sección transversal de la musculatura lateral de la carpa. Reacción mATPasa con preincubación alcalina a pH 10,3. Las flechas señalan la presencia de fibras rojas (MR) de alta actividad mATPasa. La musculatura rosa (mr) es amplia y con gran variedad de fibras. Barra = 40  $\mu$ m.

FIGURA 5. Sección transversal de la musculatura lateral de la carpa. Reacción mATPasa con preincubación ácida a pH 4,6. Las flechas señalan la presencia de fibras rosas (mr) de alta actividad mATPasa e infiltradas hacia el estrato muscular blanco (MB) cuyas fibras ofrecen distinta actividad mATPasa (modelo de mosaico). Barra = 80  $\mu$ m.

