

Tipos fibrilares en diversos músculos de llama (*Lama glama*) de interés zootécnico

GRAZIOTTI, G. H.¹; RODRÍGUEZ MENÉNDEZ, J.¹; MONTESANO, A.¹;
JALLEY,¹ S.; AFFRICANO¹, N.O.; VICTORICA, C.L.

RESUMEN

Diversos estudios utilizan las variaciones en la población de las fibras musculares como un elemento que contribuye a evaluar la calidad de la carne en especies de interés zootécnico según genética, sistemas de producción y dietas.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar en diversos músculos de llama (*Lama glama*) el tipo fibrilar como estudio preliminar útil para ulteriores investigaciones sobre la calidad de la carne.

Muestras de los músculos bíceps femoral, glúteo medio, recto femoral y semitendinoso de llama fueron tratadas mediante la técnica de miosina adenosina trifosfatasa (para determinar el tipo fibrilar). Los resultados muestran para los tipos I, IIA, IIX, IIB, IIXB, IIXA y IIC respectivamente, la siguiente distribución porcentual: 17.98, 16.29, 31.46, 27.53, 6.18 y 0.56 %; 19.16, 22.16, 37.13, 18.56, 1.20, 0.30 y 1.50 %; 20.12, 20.12, 37.02, 8.76, 9.52, 3.53 y 0.92 %; 13.56, 9.31, 41.50, 26.72, 8.70, 0.20 % respectivamente ($X^2 \pm 95\%$). La distribución del tipo de fibra depende de los músculos considerados. Los músculos recto femoral y glúteo medio tienen mayor nivel oxidativo que los músculos restantes, y menor cantidad de fibras IIB que los otros músculos considerados, teniendo en principio mejor condición relativa al sabor, jugosidad y pH postmortem, y menor para la consideración de la tiernización.

Palabras clave: (Llama), (Fibras musculares), (Calidad de carne).

¹Area de Anatomía. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. Argentina. Chorroarín 280. Cap. 1427. Argentina.
E-mail: ggrazio@fvet.uba.ar

Financiamiento: Secretaría de Ciencia y Técnica UBA. V-039. Abstract presentado en las V Jornadas Multidisciplinarias de la Sociedad Argentina de Biología 2003.

Recibido: febrero 2004 - Aceptado: junio 2004. Versión on line: junio 2004.

Fibre types in different llama (*Lama glama*) muscles used as meat source

SUMMARY

Many studies take variations in muscle fibre type population as a tool, which contributes to measure the meat quality according to selection and diets of the meat animal species.

The aim of this research was to determine the fibre type populations in different llama muscles as a useful preliminary study for any future approach about meat quality in this species. Samples from llama biceps femoris, gluteus medius, rectus femoris and semitendinosus muscles, were staining by myofibrillar adenosine triphosphatase for determining the fibre type population. Results show that I, IIA, IIX, IIB, IIXB, IIXA and IIC have the following distribution: 17.98, 16.29, 31.46, 27.53, 6.18 y 0.56 %; 19.16, 22.16, 37.13, 18.56, 1.20, 0.30 y 1.50 %; 20.12, 20.12, 37.02, 8.76, 9.52, 3.53 y 0.92 %; 13.56, 9.31, 41.50, 26.72, 8.70, 0.20 % respectively ($X^2 \pm 95\%$). The fibre type distribution is linked to pondered muscles. Rectus femoris and gluteus medius muscles have a higher oxidative profil that other considered muscles, and less quantity of the IIB type fibres. This muscle fibre population give them a better condition about taste, juiceless and pH postmortem while they could have an unsuccessful performance during tenderisation process.

Key words: (Llama), (Fibre muscles), (Meat quality)

INTRODUCCIÓN

La información concerniente al desarrollo de diferentes tipos de fibras musculares, su metabolismo, crecimiento y capacidad dinámica para adaptarse a las demandas fisiológicas, sugiere que los criadores de animales para carne deben ser cautelosos en el uso de los programas que no tomen en cuenta dichos factores, y las posibles consecuencias que puedan tener a largo plazo³.

Así, hoy en día se sabe que las características fibrilares del músculo son el resultado de la interacción de diferentes factores⁴, unos de base genética (tales como la raza); otros de influencia ambiental (actividad física, alimentación, etc.); y otros, tal vez los más decisivos, resultan de la interacción entre el genotipo y el ambiente.

Diversos estudios utilizan las variaciones en la población de las fibras musculares como un elemento que contribuye a evaluar la calidad de la carne en especies de interés zootécnico según

genética, sistemas de producción, tipo de dieta o estado fisiológico. Para la especie porcina tal vez la más estudiada en este aspecto, varias revisiones detallan los conocimientos actuales al respecto^{10, 13}. También en una especie muy estudiada como el conejo, se tienen certezas sobre la influencia de las fibras musculares sobre diversas características de las carnes. Se sabe fehacientemente que los músculos glicolíticos del conejo contienen menos lípidos totales, triglicéridos y colesterol que los músculos oxidativos¹. Diferencias en la evolución de la tiernización se observan de acuerdo al tipo de fibra predominante en el músculo estudiado¹⁵.

La llama, como especie productora de carne, muestra importancia creciente; tal es así, que recientemente, se realizó en Sudamérica el III Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos, y uno de sus pilares científicos estuvo dedicado a este aspecto del conocimiento.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar el tipo fibrilar en diversos músculos

de llama, como trabajo de base para estudios futuros orientados a la producción de carne en esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras musculares fueron tomadas mediante biopsia percutánea¹⁴ a partir de los músculos bíceps femoral (BF), glúteo medio (GM), recto femoral (RF), y semitendinoso (ST), a la altura de la mitad del vientre muscular, pertenecientes a 10 llamas entre 2.5 y 3 años de edad, provenientes de un campo de Trenque Láuquen, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Estos animales se encontraban pastando libremente y son criados para consumo de carne. Las muestras fueron cubiertas con polvo de talco e inmersas en nitrógeno líquido durante 40 segundos¹⁸. Cortes seriados transversales de 10 mm de espesor obtenidos en crióstato (Leica Jung Cryocut 1800) a -27°C fueron utilizados para determinar el tipo fibrilar mediante la determinación de la actividad diferencial de adenosina trifosfatasa miofibrilar (mATPasa)⁵, luego de preincubaciones ácidas a pH 4.5 durante 2 minutos^{11, 16}. Secciones adicionales fueron confrontadas frente a anticuerpos monoclonales A. 474 (1:10) y S5-8H2(1:100)¹⁷, cuya especificidad contra isoformas de cadenas pesadas de miosina se expresa en la tabla 1. El metabolismo predominante en cada tipo de fibra fue determinado mediante la reacción de nicotinamida dinucleótido tetrazolium reductasa (NADH-TR)⁷. Simultáneamente fueron obtenidas muestras musculares del músculo semitendinoso de 10 cabras de raza nubia criolla de doble propósito y procesadas simultáneamente con las del músculo semitendinoso de llama (montadas en los mismos portaobjetos), para tener un patrón en las reacciones (Tabla 2).

Microfotografías de las reacciones de mATPasa e inmunohistoquímica fueron

utilizadas para determinar el tipo fibrilar¹¹. Los datos fueron categorizados mediante el test Chi Cuadrado. La probabilidad fue fijada en 5%.

Todos los procedimientos efectuados sobre animales vivos fueron realizados siguiendo los “Principios internacionales aplicables a las investigaciones biomédicas con animales”, de acuerdo al Código ético desarrollado por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas y publicados en las crónicas de la OMS⁶.

Tabla 1. Especificidad de los anticuerpos monoclonales contra isoformas de cadena pesada de miosina de músculo adulto de llama usados en este estudio, y reactividad de cada tipo de fibra en mATPasa y NADH-TR.

Tipo fibras	A.474 1:10	S5-8H ₂ 1:100	mATPase pH 4.5	NADH- TR
I	-	+	++++	+
IIA	+	-	-	+ -
IIX	+	+	+	- (+ -)
IIB	-	+	+++	-
IIXB	+ / + -	+	++	-
IIXA	+	+	+	+ -

Tabla 2. Reactividad de los tipos de fibras en mATPasa en distintos pH de preincubación e inmunohistoquímica en músculo semitendinoso de cabra usados en este estudio.

Fibras	mATPasa pH 4.3	mATPasa pH 4.5	A.474 1:10	S5-8H 21:100
Tipo I	+++	++	Neg	+
Tipo IIA	+	+++	+	Neg
Tipo IIX	Neg	Neg	Neg	+
Tipo IIXA	+	+++	+	+

Tabla 3. Porcentajes de los tipos de fibras en los músculos considerados en este estudio. (Chi cuadrado $p < 0.05$). Los valores indicados con la misma letra no varían significativamente. Bíceps femoral, BF; semitendinoso de cabra, CAST; semitendinoso de llama, LST; recto femoral, RF; glúteo medio, GM.

Tipos	BF	CAST	LST	RF	GM
I	17.98 ^a	31.18	13.56 ^a	20.12 ^a	19.16 ^a
IIA	16.29 ^{ab}	27.42 ^a	9.31 ^b	20.12 ^a	22.16 ^a
IIB	27.53 ^a	0.00	26.72 ^a	8.76	18.56 ^a
IIC	0.00	0.00	0.00	0.92 ^a	1.50 ^a
IIX	31.46 ^a	35.48 ^a	41.50 ^a	37.02 ^a	37.13 ^a
IIXA	0.56 ^a	5.91 ^b	0.20 ^a	3.53 ^b	0.30 ^a
IIXB	6.18 ^a	0.00	8.70 ^a	9.52 ^a	1.20

RESULTADOS

En llama se obtienen los tipos fibrilares puros I, (1), IIA (2), IIX (3), IIB (4), y los híbridos IIXB (5) y IIXA (6), (Fig 1, A, C, E, G). En cabra se obtienen los tipos puros I (1), IIA (2), y IIX (3) y el híbrido IIXA (4) (Fig.2).

Las fibras con mayor capacidad oxidativa fueron las de tipo I, siendo intermedias las IIA y IIXA. Un metabolismo anaeróbico muestran las fibras IIX, IIB y IIXB (Fig. 1, B, D, F, H).

La distribución de los tipos de fibras en cada uno de los músculos considerados y su significación estadística se expresan en la tabla 3.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados acerca de la composición fibrilar de los músculos de llama pueden servir de conocimiento inicial, aplicable a la evaluación de la calidad de carne, si son analizados con aquéllos obtenidos por otros investigadores en especies más estudiadas en este aspecto, como el cerdo y el conejo. Es sabido que en el músculo el descenso del pH decidido

por un exceso de fibras anaeróbicas (IIB, IIX, IIXB), produce desnaturalización proteica⁹. La alta capacidad oxidativa de las fibras I y IIA afecta la calidad mejorando los caracteres sensoriales de la carne^{8, 20}, ya que existe una relación positiva entre el sabor, la jugosidad, y la mayor irrigación y cantidad de lípidos intrafibrilares de estos dos tipos de fibras¹.

Así, sobre estos resultados obtenidos puede afirmarse que los músculos RF y GM tienen menor valor glicolítico, dado los valores significativamente menores de fibras IIB y IIXB respectivamente. Con respecto al músculo de cabra, esta especie presenta características más favorables, debido al incremento de fibras de tipo I, IIA y la carencia de fibras de tipo IIB, desde que las fibras IIX y IIXA pueden presentar tendencia a un metabolismo anaeróbico-intermedio. Un aumento en las fibras de tipo I y IIA y una disminución del tipo IIB está asociado en el cerdo, al menos para el músculo longissimus, a un mayor nivel de calidad¹⁹. Esto supone una mayor capacidad oxidativa, lo cual favorece las características relativas al sabor, color, jugosidad, y pH postmortem, con respecto

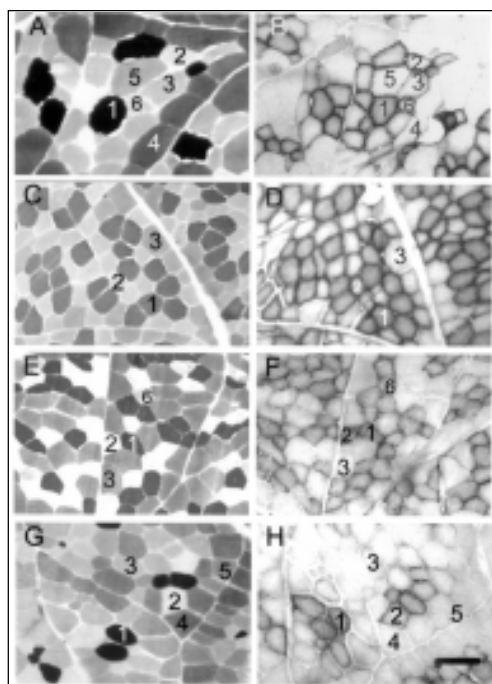


Figura 1. Cortes seriados de los músculos bíceps femoral (A, B), glúteo medio (C, D), recto femoral (E, F), y semitendinoso (G, H) de llama. La columna de la izquierda corresponde a la reacción de mATPasa a pH de preincubación 4.5; la columna de la derecha corresponde a la reacción de NADH-TR. Fibras tipo I (1), tipo IIA (2), tipo IIX (3), tipo IIB (4), tipo IIXB (5), tipo IIXA (6). Escala: 100µm

al resto de los músculos considerados en llama, incluido el semitendinoso (LST).

A su vez, los músculos RF y GM de llama presentan un contenido de fibras oxidativas de tipo I y IIA más elevado que los otros músculos de esta especie, si bien dichos valores no presentan una diferencia significativa.

Por el contrario, documentación sobre la tiernización de la carne de conejo¹⁵ indica que las fibras I requieren un “shear force” que las fibras IIB y IIX, por lo cual los músculos RF y GM de llama y CST de cabra tendrían en

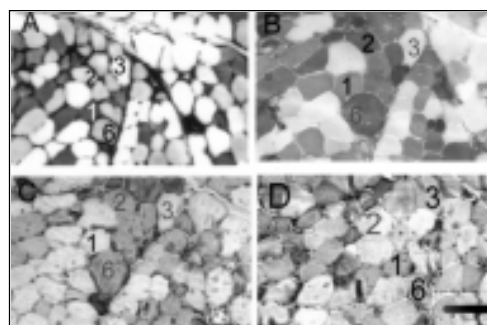


Figura 2. Cortes seriados de músculo semitendinoso de cabra: A, B, reacciones histoquímicas de mATPasa pH 4.3, mATPasa pH 4.5, respectivamente. C, D reacciones de inmunohistoquímica, anticuerpos A.474 (1:10) y S5-8H2 (1:100) respectivamente. Fibras tipo I (1), tipo IIA (2), tipo IIX (3), tipo IIXA (6). Escala 100 µm.

principio menor condición que los restantes músculos considerados.

Nuestros resultados en llama y cabra muestran los tipos fibrilares de acuerdo a trabajos previos^{11, 2}. Sin embargo, las fibras IIA de cabra, en pH de preincubación 4.5-4.48, difieren en su coloración con respecto a los datos previos mencionados; en nuestro caso, las fibras IIA se tiñen con mayor intensidad que las fibras de tipo I, corroborado por la tinción luego de preincubación a pH 4.2-4.3, donde recién son total o parcialmente inactivadas las fibras IIA, mientras que las de tipo I se tiñen intensamente. Además las fibras IIA son positivas en A.474, y específicamente negativas en S5-8H2 (Fig 2), en todas las especies^{2, 11}. Las fibras IIX son negativas en ambos pH ácidos de preincubación, y las fibras IIXA son las más intensamente teñidas en pH 4.45 (Fig. 2). Son razonablemente coincidentes nuestros resultados de preincubación a pH 4.3 con la documentación revisada² a pH 4.5. Dado que en nuestro caso los cortes seriados de llama y cabra estuvieron montados en un mismo portaobjetos y por lo tanto procesados simultáneamente en el

mismo medio que el músculo de llama, se corrobora la existencia de diferencias en la actividad de la mATPasa para el mismo tipo de fibra, en el mismo músculo de distintas especies, hecho ya adecuadamente documentado¹².

CONCLUSIONES

La distribución del tipo de fibra depende de los músculos considerados, y por lo tanto su relación con los caracteres organolépticos debe hacerse para cada músculo.

Al momento, la tipificación en la llama y su influencia en la calidad de la carne, sólo puede interpretarse en relación a especies más estudiadas, tales como el conejo y el cerdo.

Los músculos RF y GM tienen mayor nivel oxidativo que los músculos restantes, y menor cantidad de fibras IIB que los otros músculos considerados, teniendo en principio mejor condición relativa al sabor, jugosidad y pH posmortem, y menor para la consideración de la tiernización.

El pH más adecuado de preincubación para determinar los tipos fibrilares no sólo depende del músculo sino también de la especie, y en nuestros resultados en llama y cabra difiere en valores importantes.

AGRADECIMIENTOS

Fuente de financiamiento: Secretaría de Ciencia y Técnica UBA. U.B.A.C.Y.T V0-39.

El anticuerpo A4.74 desarrollado por Helen Blau fue obtenido del Banco de Híbridos de Estudios de Desarrollo, desarrollado bajo el auspicio de NICHHD y financiado por la Universidad de IOWA.

Agradecemos al Dr. Schiaffino S. (Universidad de Padua, Italia) su generosa donación del anticuerpo BF-35. El anticuerpo S5-8H₂ es una generosa donación del Dr. E.

Barrey (INRA, Francia) ambos a través del Dr. J.L. López Rivero (Universidad de Córdoba, España).

También agradecemos al Área de Histología de la Fac. Cs. Veterinarias UBA por facilitar el uso del crióstato.

The Mab. A4.74 developed by Helen Blau was obtained from Developmental Studies Hybridoma Bank developed under the auspices of the NICHHD and maintained by the University of Iowa.

We thank Dr. S. Schiaffino (University of Padova, Italy) for his generous gift of the Mab BF-35. The Mab S5-8H₂ is a generous gift from Dr. Eric Barrey (INRA, France) both through Dr. J.L. López Rivero (University of Cordoba, Spain).

BIBLIOGRAFÍA

1. ALASNIER, C; RÈMIGNON, H; GANDEMER, G. 1996. Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Science* 43: 213-224.
2. ARGÜELLO, A; LÓPEZ FERNÁNDEZ, JL; RIVERO, JLL.. 2001. Limb myosin heavy chain isoproteins and muscle fiber types in the adult goat (*Capra hircus*). *Anat. Record* 264: 284-293.
3. ASHMORE, CR. 1974 Phenotypic expression of muscle fiber types and some implications to meat quality. *J. of Animal Science* 38: 1158-1164.
4. BARREY, E; VALETTE, J; JOUGLIN, M. 1998. Analyse de la composition en chaînes lourdes de la myosine chez le cheval: application à la sélection du cheval de course. *INRA Production Animal* 11: 160-163.
5. BROOKE, M M; KAISER, K K. 1970. Muscle fibre types: how many and what kind?. *Arch Neurol.* 23: 369-379.
6. CRÓNICAS DE LA OMS. 1985, 39: 55-60
7. DUBOWITZ, V; BROOKE, MH.. Muscle Biopsy: a modern approach, p 475. Philadelphia. W. B.

- Saunders. 1973.
8. ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; FJELNER-MODIG, S. 1985. Skeletal muscle characteristics in different breeds of pigs in relation to sensory properties of meat. *Meat Science* 13: 33-47.
 9. FAZARINC, G; MAJDIC, G; LORGER, J; POGACNIK, A; BAVDEK, SV. 1995. Combined histochemical and immunohistochemical determination of three muscles fibre types in a single section of porcine skeletal muscle. *Eur. J. Histochem.* 39:309-316.
 10. GRAZIOTTI, G.H.; RÍOS, CM; BASSO, L.R. 2000. Las fibras musculares esqueléticas y la producción de carne en el cerdo. Revisión bibliográfica. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 20: 145-159.
 11. GRAZIOTTI, GH; RÍOS, CM; RIVERO, LJL. 2001. Evidence for three fast myosin heavy chain isoforms in type II skeletal muscle fibers in the adult llama (*Lama glama*). *The J. Histochem & Cytochem.* 49: 1033-1044.
 12. HÄMÄLÄINEN, N; PETTE, D. 1995. Patterns of myosin isoforms in mammalian skeletal muscle fibres. *Microsc. Res. and Technol.* 30: 381-389.
 13. LEBRET, B; LEFAUCHEUR, L; MOUROT, J. 1999. La qualité de la viande de porc . Influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire. *INRA Prod. Anim.* 12: 11-28.
 14. LÓPEZ RIVERO, JL; MONTERDE, JG; MIRÓ, F; DIZ, A; MARTÍNEZ GALISTEO, A. 1989. Biopsia muscular con aguja percutánea en el caballo: descripción y aplicaciones. *ONE 2ª época* N° 81: 26-28.
 15. MESTRE PRATES, JA; GARCÍA E COSTA, FJS; RIBEIRO, AMR; DIAS CORREIA, AA. 2002. Contribution of major structural changes in myofibrils to rabbit meat tenderisation during ageing. *Meat Science* 61: 103-113.
 16. NWOYE, L; MOMMAERTS, WFHM; SIMPSON, DR; SREYDERIAN, K; MARUSHI, M. 1982. Evidence for a direct action of thyroid hormone in specifying muscle properties. *Am. J. Physiol.* 242: R401-R408.
 17. RIVERO, LJL; TALMADGE, RJ; EDGERTON, R.V. 1996. Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: an immunohistochemical and electrophoretic study. *Anat. Record* 246:185- 194
 18. RONÉUS, N; ESSÉN- GUSTAVSSON B. 1997. Skeletal muscle characteristics and metabolic response to exercise in young Standardbreds. *AJVR.* 58: 167-170.
 19. RUUSUNEN, M. 1994. Muscle histochemical properties of different pig breeds in relation to meat quality. Thesis. Department of food technology. University of Helsinki
 20. RUUSUNEN, M. 1996. Composition and cross sectional area of muscle fibre types in relation to daily gain and fat content of carcass in Landrace and Yorkshire pigs. *Agricultural and Food Science In Finland* 5: 593-600.

