

CRECIMIENTO MUSCULAR EN LARVAS DE LUBINA ATLÁNTICA, *Dicentrarchus labrax* L., CULTIVADAS A DIFERENTES TEMPERATURAS*.

Muscle growth in larvae of Atlantic sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reared at different temperatures.

Ayala M^a.D.¹, García-Alcázar A.², Gil F.¹

¹Anatomía y Embriología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia 30100, Spain; ²Centro Oceanográfico de Murcia (I.E.O.), Ctra. de la Azohía s/n 30860 Pto. de Mazarrón, Spain. TI: (9)68364698. Fax: (9)68364147

RESUMEN

Dos lotes de lubina atlántica fueron mantenidos a 19°C durante el período embrionario (desde la fertilización hasta la eclosión). Tras la eclosión, cada lote fue subdividido en 2 tanques de cultivo larvario que fueron mantenidos a temperatura natural y 19°C, respectivamente, hasta los 40 días posteclosión. La temperatura natural fue inicialmente de $\cong 15^\circ\text{C}$ y aumentó gradualmente. En ambos grupos se cuantificaron el área transversa de los músculos blanco y rojo, así como el tamaño y número de sus fibras.

Tras la eclosión, las prelarvas cultivadas a mayor temperatura (19°C) finalizaron la fase vitelina antes que las prelarvas mantenidas a temperatura natural (3 y 4 días posteclosión, respectivamente). Durante esta fase de alimentación endógena, el crecimiento muscular tuvo lugar únicamente por hipertrofia de las fibras blancas y rojas, y no se observó influencia de la temperatura sobre dicho crecimiento. Tras la reabsorción del saco vitelino, en larvas de 20 días de ambos grupos se apreció un fuerte incremento hipertrófico e hiperplásico, siendo la generación de fibras mayor en larvas cultivadas a 19°C ($P < 0,05$). Este hecho muestra una correlación positiva entre hiperplasia y velocidad de crecimiento tras el comienzo de la alimentación exógena, mientras que, durante la fase de alimentación endógena, el crecimiento del miotomo fue bajo y asociado a la hipertrofia de sus fibras. Posteriormente, a los 40 días, todos los parámetros musculares fueron mayores a 19°C de cultivo, de forma significativa para todos ellos, excepto para el número de fibras rojas.

Palabras clave: lubina, crecimiento muscular, hipertrofia, hiperplasia, temperatura.

* Este trabajo fue subvencionado por el proyecto MAR96-1831 de CICYT.

ABSTRACT

Two experimental groups of Atlantic sea bass were maintained at 19°C during embryonic period (from fertilization until hatching). After hatching, each group was separated in two tanks of larval cultivation, that were maintained at both natural temperature and 19°C, respectively. Natural temperature initially was @ 15°C and gradually raised. In both groups the transverse area of white and red muscles was quantified, as well as the size and number of their fibres.

Following hatching, prelarvae reared at higher temperature (19°C) finished the vitelline phase earlier than prelarvae maintained at natural temperature (3 and 4 days posthatching, respectively). During this endogenous phase, muscle growth took place only by hypertrophy of white and red muscle fibres, and no temperature influence on such growth was observed. After reabsorption of the vitelline sack, 20 days larvae in both groups showed a strong increase of hypertrophy and hyperplasia, being the recruitment of fibres higher in larvae reared at 19°C ($P < 0,05$). This fact shows a positive correlation between hyperplasia and growth rate after the beginning of exogenous feeding, whereas during endogenous phase, muscle growth was low and it was associated to the hypertrophy of the muscle fibres. Subsequently, at 40 days, all muscle parameters were greater at 19°C and this temperature effect was significative for all of them, except for the number of red muscle fibres.

Keywords: sea bass, muscle growth, hypertrophy, hyperplastic, temperature.

INTRODUCCIÓN

Los miotomos de las larvas de la mayoría de los teleósteos se componen de dos estratos musculares: un estrato superficial de fibras de pequeño diámetro con abundantes mitocondrias y dispuestas en monocapa; y un estrato profundo de mayor grosor, integrado por fibras de mayor tamaño y escasas mitocondrias. Ambos estratos musculares son precursores de los dos músculos mayoritarios del miotomo de los peces teleósteos: el músculo rojo o superficial y el músculo blanco o profundo (EL-FIKY *et al.* 1987; SCAPOLO *et al.* 1988; MASCARELLO *et al.* 1995; JOHNSTON *et al.* 1996). En los peces, a diferencia de los mamíferos, el aumento de la masa muscular tras el período embrionario se produce, no sólo por hipertrofia de las fibras musculares, sino también por génesis de nuevas fibras (hiperplasia) (GREER-WALKER 1970; STICKLAND 1983; WEATHERLEY y GILL 1987). Durante el período larvario, la

intensidad y/o alternancia de ambos mecanismos varía en función de diversos aspectos, tales como las características de cada especie, la alimentación, y la interrelación de factores medioambientales externos como la temperatura, el fotoperíodo, etc. Dado el carácter poiquiloterma de los peces, la temperatura es uno de los factores que más influye en el desarrollo y crecimiento de cada especie. El estudio del efecto de la temperatura sobre el crecimiento de la musculatura axial de los teleósteos resulta particularmente interesante durante las fases embrionaria y larvaria. En estos períodos acontecen importantes hechos biológicos como la organogénesis y la metamorfosis, sobre los cuales la influencia de la temperatura puede tener importantes consecuencias en el crecimiento posterior y en la propia supervivencia de las larvas y postlarvas (JOHNSTON 1993).

El efecto de la temperatura sobre la miogénesis y la organogénesis en general ha sido estudiado en embriones y larvas de va-

rios teleósteos (STICKLAND *et al.* 1988; VIEIRA y JOHNSTON 1992; BROOKS y JOHNSTON 1993; JOHNSTON 1993; USHER *et al.* 1994; JOHNSTON *et al.* 1995, 1997; NATHANAILIDES *et al.* 1995). En dichas investigaciones se pone de manifiesto una aceleración de la miogénesis y, en general, del desarrollo de los órganos y tejidos corporales de embriones y larvas, por efecto de la temperatura, ocasionando una aceleración de hechos biológicos tales como la eclosión y la reabsorción del saco vitelino. Así mismo, en diferentes especies de teleósteos se ha estudiado el efecto de la temperatura sobre el crecimiento del miotomo a la eclosión y durante los primeros estadios larvarios (STICKLAND *et al.* 1988; VIEIRA y JOHNSTON 1992; JOHNSTON 1993; USHER *et al.* 1994; JOHNSTON y MCLAY 1997). Dichos estudios, aunque muestran una considerable variabilidad intra e interespecífica, revelan una influencia significativa de la temperatura sobre la contribución relativa de la hipertrofia e hiperplasia fibrilares al crecimiento muscular. Recientemente, nosotros hemos estudiado el efecto de la temperatura en larvas de diferentes poblaciones de lubina (AYALA *et al.* 2000, 2001) y hemos encontrado una gran influencia de las temperaturas de incubación y de cultivo sobre los mecanismos de crecimiento muscular y el crecimiento corporal, así como sobre la aparición de hechos biológicos relacionados con la metamorfosis larvaria (escamación). En tales estudios, las poblaciones de lubina fueron incubadas y cultivadas a distintos regímenes de temperatura, pero, al igual que en otros teleósteos, la respuesta a la temperatura mostró algunas variaciones entre los diferentes lotes empleados. Con el fin de complementar los experimentos anteriores, y definir con precisión los rangos óptimos de temperatura que

determinen mayores tasas de crecimiento muscular, en el presente estudio mantuvimos 2 lotes de lubina a temperaturas de incubación superiores (19°C) a las empleadas en los estudios previos. Tras la eclosión, cada lote fue cultivado a diferentes temperaturas para valorar su efecto sobre el crecimiento y desarrollo larvarios. Los resultados hallados fueron contrastados con los distintos trabajos realizados en ésta y otras especies, y pretenden ser de interés aplicativo en el ámbito acuícola.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó con ejemplares de lubina del Instituto Español de Oceanografía (Centro Oceanográfico de Murcia, Planta de cultivos de Mazarrón). Se empleó una puesta de $\cong 126000$ huevos de progenitores de lubina atlántica adaptados a la vida en cautividad, y mantenidos en un tanque de 45 m³, con temperatura y fotoperíodo naturales. La puesta tuvo lugar en abril de 1998, a una temperatura de $\cong 15^\circ\text{C}$, y fue repartida en 2 lotes de aproximadamente 60000 huevos que se colocaron en 2 tanques de cultivo larvario de 1 m³ de capacidad, cilíndricos y de fibra de vidrio, donde tuvo lugar tanto la incubación como el cultivo larvario. Se utilizó el método de cultivo en oscuridad y sin alimentación hasta los 140°C-día, momento en que se inició la alimentación larvaria directamente con nauplii de *Artemia salina*. La experiencia finalizó a los 40 días posteclosión. Durante el período embrionario se emplearon altas temperaturas de incubación (19°C) en ambos lotes. Tras la eclosión, un lote fue cultivado a temperatura natural ($\cong 15^\circ\text{C}$) y otro fue mantenido a alta temperatura de cultivo (19°C) (Figura 1). Las muestras se tomaron en diferentes estadios, a lo largo del desarrollo larvario (Tabla 1; Fi-

gura 2): eclosión; apertura de la boca; 20 días y 40 días. Desde la eclosión hasta el comienzo del destete se eligieron al azar 10 especímenes por cada estadio y tanque, que fueron sobreanestesiados con el ácido 3-

aminobenzoico etil éster de la sal metanosulfonato (MS222, SIGMA) y procesados posteriormente de la siguiente forma: la totalidad de la larva o su mitad caudal al ano fijada en glutaraldehido al 2,5 % en tam-

Tabla 1. Estadios de toma de muestras.

Toma de muestras (hecho biológico o nutricional)	Edad (días posteclosión)	°C-día
Eclosión (fin del período embrionario)	0 días (período de incubación: 2 días)	37,8°C-día
Apertura de la boca (final de la fase prelarvaria)	3 días (19°C cultivo) 4 días (T ^a natural de cultivo)	113,7°C-día 126,5°C-día
Alimentación viva (<i>nauplii</i> de <i>Artemia</i> salina)	20 días	
Inicio de la alimentación inerte (pienso) y comienzo de la metamorfosis larvaria	40 días	

Figura 1. Regímenes de temperatura aplicados en ambos grupos experimentales.

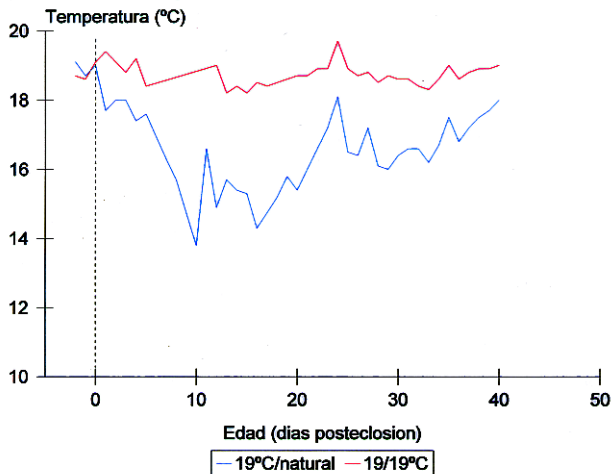
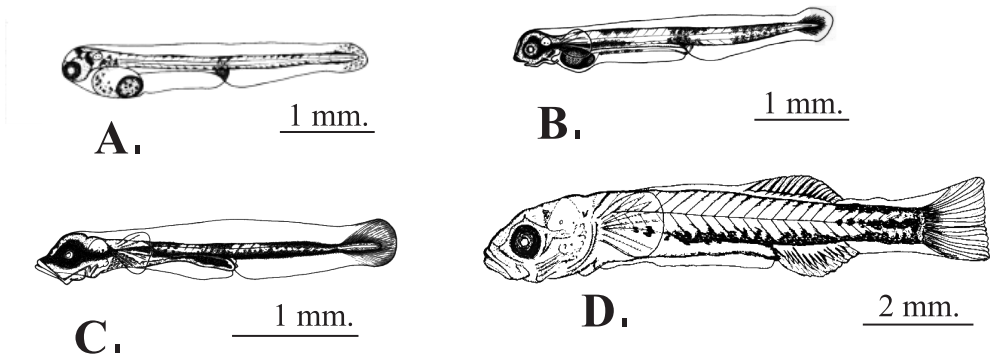


Figura 2. Desarrollo de lubina (redibujado a partir de BARNABÉ, 1991). *A,B*) Fase prelarvaria lecitotrofa: *A*) prelarva de 1 día, *B*) lubina de 7 días (apertura de la boca). *C,D*) Fase larvaria heterótrofa: *C*) larva de 17 días, *D*) larva de 40 días.



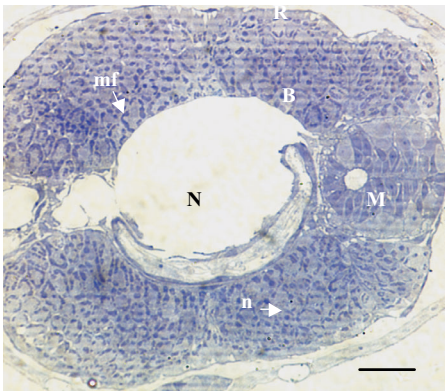
pón cacodilato 0,1 M (pH 7,2-7,4) durante 3 horas, a 4°C. A continuación, las muestras se lavaron en una solución de sacarosa al 0,35% en tampón cacodilato 0,1 M (pH 7,2-7,4). Posteriormente fueron post fijadas en ácido ósmico al 1%, teñidas en acetato de uranilo al 4,8% en tampón veronal (pH 7,2-7,4) durante 2 horas a 4°C, deshidratadas en escala ascendente de alcoholes, lavadas en óxido de propileno y finalmente incluidas en Epon, según el protocolo de rutina seguido en el Servicio Universitario de Microscopía (Universidad de Murcia). Se realizaron secciones transversas semifinas (1 μ m) a nivel de la apertura anal mediante un ultramicrotomo Reichert Jung. Las secciones semifinas fueron teñidas usando la técnica ONTELL (1974).

La cuantificación del crecimiento de la musculatura lateral se realizó a partir de 5 individuos de cada estadio y tanque elegidos al azar, mediante análisis morfométrico con un sistema de análisis de imagen (IMCO 10), en el Servicio de Análisis de Imagen de la Universidad de Murcia. Se cuantificaron los siguientes parámetros: área transversal de los músculos rojo y blanco y área transversal del

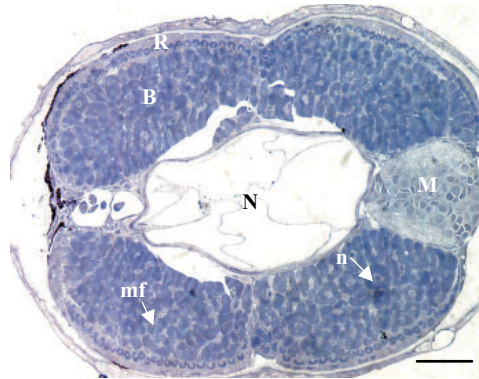
total del miotomo; número de fibras de los músculos rojo y blanco; y área y diámetro mínimo de la sección transversal de las fibras de los músculos rojo y blanco. Estos últimos parámetros (área y diámetro mínimo) permitieron cuantificar la hipertrofia muscular, para lo cual se midió, en una mitad corporal de la larva de cada uno de los peces, el área de un número representativo de fibras rojas y blancas: la mayoría de las fibras rojas y blancas que se extienden desde el septo transversal hasta los límites epi e hipoaxial del miotomo. A los 20 y 40 días, dado el gran número de fibras, se eligió la zona intermedia del espesor del miotomo comprendida entre el septo transversal y los límites epi e hipoaxial (Figura 3C). La hiperplasia muscular se cuantificó al comparar el número total de fibras musculares que presentaban los ejemplares de cada tanque en cada estadio larvario. El conteo fibrilar se realizó directamente sobre montajes fotográficos a un aumento suficiente.

La interpretación estadística de los resultados fue realizada usando un análisis de varianza (Anova, $P < 0,05$), obtenido mediante el programa Systat 5.0Win. Además, median-

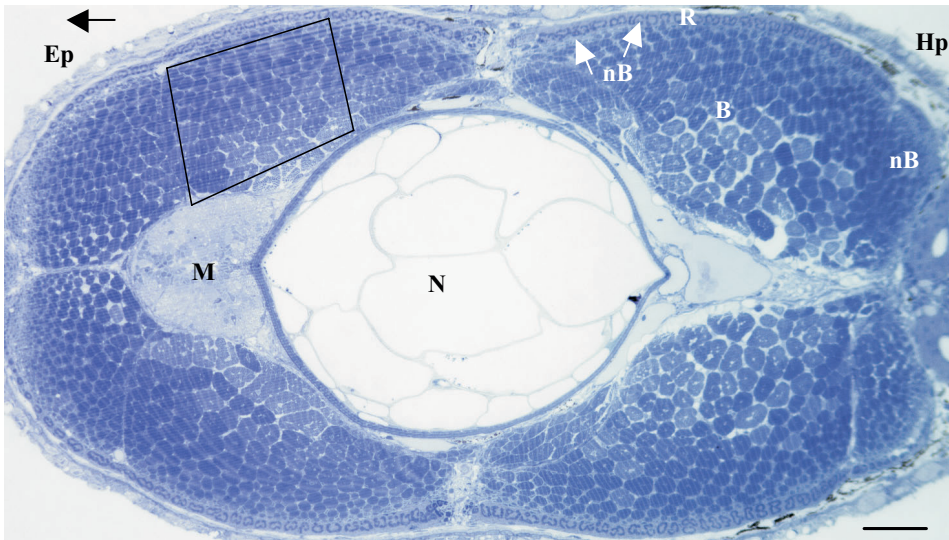
Figura 3. Sección transversa de la musculatura lateral de la lubina teñida según la Técnica ONTELL (1974). *A)* Miotomo de una prelarva de lubina recién eclosionada incubada a 19°C. Barra: 56,24 µm; *B)* Prelarva de lubina cultivada a 19°C, al final de la fase prelarvaria (apertura de la boca). Barra: 60,39 µm; *C)* Miotomo de una larva de lubina de 20 días cultivada a 19°C. Barra: 57,12 µm; El área enmarcada corresponde a la zona elegida para la cuantificación del área media y diámetro mínimo de las fibras del músculo blanco. **B:** músculo blanco; **R:** músculo rojo; **n:** núcleo de miotubo; **mf:** miofibrillas; **N:** notocorda; **M:** médula espinal; **nB:** nuevas fibras musculares blancas; **Ep:** extremo epiaxial; **Hp:** extremo hipoaxial.



A.



B.



C.

te histogramas de los tamaños fibrilares se comparó la distribución del área y diámetro de las fibras musculares a cada temperatura.

RESULTADOS

Fase vitelina o de alimentación endógena:

Esta fase comprende dos períodos: período embrionario o de incubación (desde la fertilización hasta la eclosión); y el período prelarvario (desde la eclosión hasta la apertura de la boca). En este experimento, la temperatura de incubación fue de 19°C en ambos lotes de lubina, pero tras la eclosión, un lote se cultivó a temperatura natural, y otro se mantuvo a 19°C. Debido a las altas temperaturas de incubación empleadas en ambos lotes, el período embrionario fue muy corto: 2 días (37,8°C-día). En este momento, los miotomos de las prelarvas recién eclosionadas presentaban 2 estratos musculares: músculo superficial rojo y músculo interno blanco (Figura 3A). Las fibras superficiales se hallaban situadas bajo la piel y dispuestas en forma de monocapa, extendida desde el septo horizontal hasta los extremos epi- e hipoaxial del miotomo. Estas fibras mostraban un elevado contenido de mitocondrias ocupando principalmente la zona del sarcoplasma más próxima a la piel.

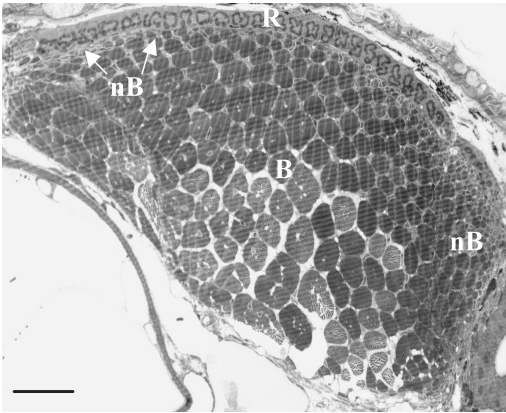
Las fibras blancas internas ocupaban la mayor parte de la sección transversal del miotomo. Estas fibras presentaban una forma poligonal y mostraban una miofibrillogénesis incompleta y el núcleo en posición central, característico de las fibras inmaduras (miotubos). Tras la eclosión, la apertura de la boca tuvo lugar a los 4 días en las prelarvas transferidas a temperatura natural, y a los 3

días en las prelarvas cultivadas a altas temperaturas (19°C) (Tabla 1). Además, el número de °C-día transcurridos desde la fertilización hasta la apertura de la boca fue menor en prelarvas cultivadas a 19°C que en aquellas cultivadas a temperatura natural (113,7°C-d y 126,5°C-d, respectivamente) (Tabla 1). En este estadio de desarrollo (apertura de la boca) los músculos rojo y blanco de ambos grupos presentaban mayor madurez que a la eclosión, de tal forma que ya podía apreciarse un aumento considerable del contenido miofibrilar en ambos estratos musculares, pero principalmente en el músculo interno blanco (Figura 3B). No obstante, aún se observaban algunos núcleos en posición central en las fibras blancas.

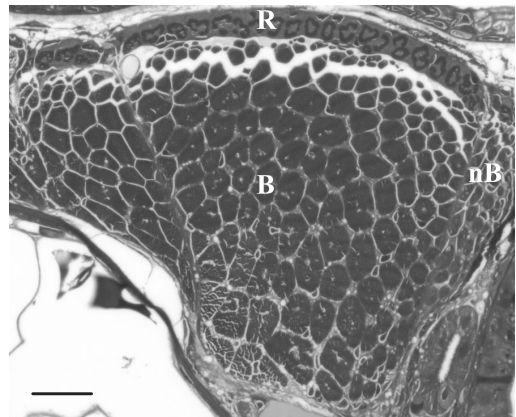
Durante la fase prelarvaria se apreció un aumento del área y diámetro mínimo de las fibras blancas y rojas en ambos lotes, sin observarse una influencia significativa de la temperatura sobre ambos parámetros (Figura 5A,B,D,E). Por otra parte, en ambos grupos experimentales no se observó hiperplasia de fibras blancas, e incluso se apreció una disminución del número de fibras rojas al final de la fase prelarvaria (Figura 5C,F). Asimismo, la temperatura no influyó sobre el número de fibras blancas y rojas, que fue similar entre ambos grupos.

En cuanto a los porcentajes de los músculos blanco y rojo, si bien el miotomo está formado principalmente por músculo blanco, durante esta etapa pudo observarse un porcentaje relativamente alto de músculo rojo, comparado con los valores que presentó en las fases más avanzadas de desarrollo. Por otra parte, el % de los músculos blanco y rojo no se vio influido por la temperatura, de tal forma que ambos grupos experimentales mostraron valores similares (Figura 6).

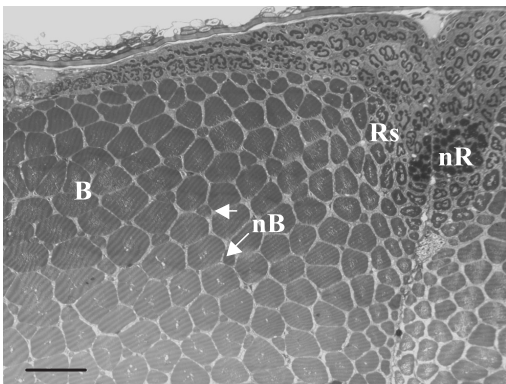
Figura 4. Sección transversa de la musculatura lateral de la lubina teñida según la Técnica Ontell (1974). *A,B*) Extremo hipoaxial del miotomo de larvas de lubina de 20 días cultivadas a 19°C y a temperatura natural, respectivamente. Barra: 41,07 µm; *C,D*). Larva de lubina de 40 días cultivada a 19°C. Barra: 41,07 µm; **B**: músculo blanco; **R**: músculo rojo; **Rs**: músculo rosa; **nB**: nuevas fibras musculares blancas. **nR**: nuevas fibras musculares rojas.



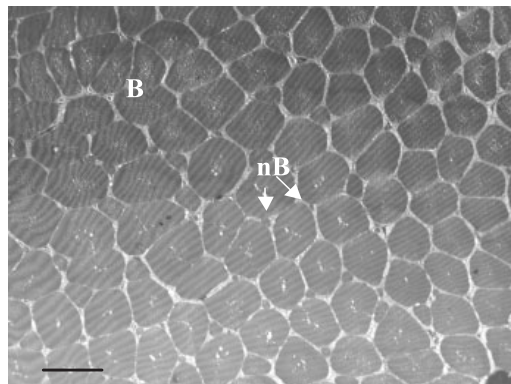
A.



B.



C.



D.

Fase de alimentación exógena:

Tras la reabsorción del saco vitelino, las larvas comienzan la fase de alimentación exógena, en la que inicialmente se les suministra alimentación viva (*Artemia salina*), y posteriormente comienzan a adaptarse a la alimentación inerte (pienso). En estos estadios,

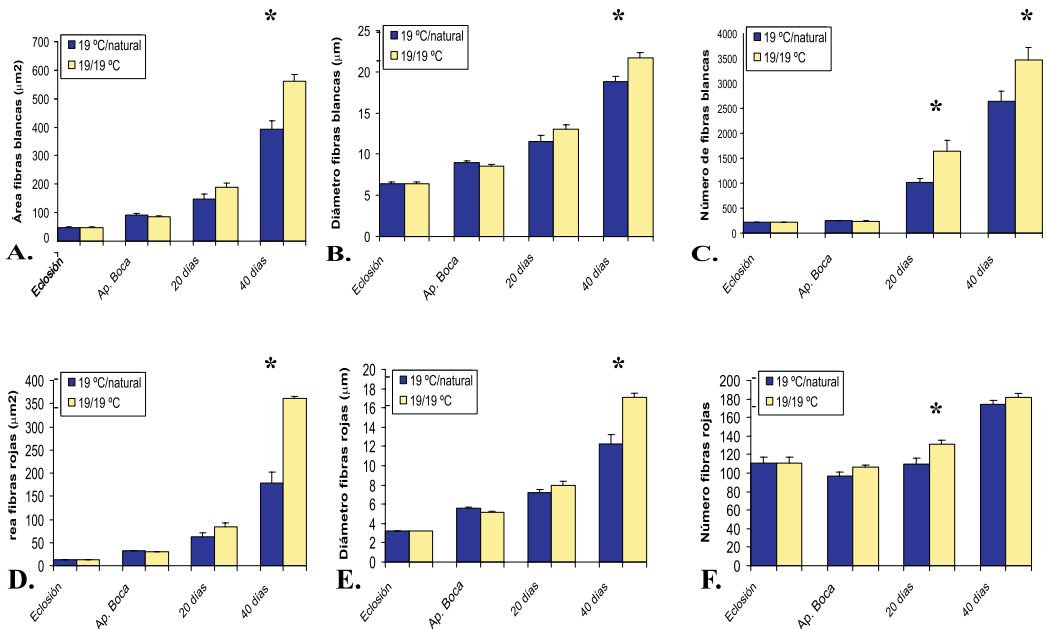
las fibras musculares mostraron un avanzado desarrollo (Figura 3C; 4). Las fibras blancas presentaban abundantes miofibrillas, y los núcleos se hallaban ya situados en la periferia. Desde los 20 días, se observaron zonas germinales de producción de nuevas fibras musculares en los límites epi- e hipoaxiales del miotomo, y en la estrecha zona situada en el límite entre los músculos blanco y rojo que

se extiende desde el septo horizontal hasta las zonas apicales (Figura 3C; 4A,B). De igual forma, a partir de los 40 días, comenzaron a observarse algunas fibras pequeñas, muy escasas, entremezcladas entre las fibras blancas de la zona intermedia del miotomo (Figura 4C,D). En esta etapa, las fibras rojas presentan alto contenido mitocondrial alrededor de las escasas miofibrillas. Cerca del septo transversal, situadas bajo el músculo rojo, se observó un pequeño grupo de nuevas fibras rojas con escasas mitocondrias y pequeños acúmulos de miofibrillas. Asimismo, desde los 40 días, entre los músculos rojo y blanco, se van diferenciando las fibras del músculo rosa, caracterizadas por un contenido relativamen-

te abundante tanto en mitocondrias como en miofibrillas.

Desde los 20 días, se observó una activación del crecimiento hipertrófico e hiperplásico en ambos grupos experimentales. La temperatura de cultivo influyó en la dinámica de crecimiento, de tal forma que tanto el tamaño como el número de fibras blancas y rojas fueron mayores en larvas cultivadas a altas temperaturas (19°C) (Figura 5). El análisis de varianza reveló que este efecto de la temperatura de cultivo era significativo para el número de fibras blancas ($P = 0,032$) y rojas ($P = 0,03$).

Figura 5. Tamaño (área y diámetro mínimo) y número de fibras musculares blancas (A-C) y rojas (D-F) de larvas cultivadas a 19°C (19/19°C) y a temperatura natural (19°C/natural), desde la eclosión hasta los 40 días posteclosión. (*) indica las diferencias significativas entre ambos grupos ($P < 0,05$). Valor medio + sem de 5 ejemplares por estadio y tanque.



A los 40 días, con el inicio de la alimentación inerte, pudo observarse un fuerte incremento del crecimiento muscular en ambos grupos y una notable influencia de la temperatura de cultivo sobre dicho crecimiento. Así, todos los parámetros musculares fueron mayores en larvas cultivadas a 19°C, de forma significativa para todos ellos, excepto para el número de fibras rojas (Figura 5; Figura 7). La distribución de tamaños fibrilares a esta edad, muestra la diferenciación de dos subpoblaciones: una población mayoritaria de fibras de gran tamaño, originada en estadios anteriores (en la mitad derecha del histograma), y una población menor de fibras de nueva generación (en la mitad izquierda del histograma) (Figura 8). La proporción de fibras de nueva generación (< 10 µm de diámetro fibrilar) fue aproximadamente del 20 % en las larvas cultivadas a 19°C y del 10 % en larvas cultivadas a temperatura natural.

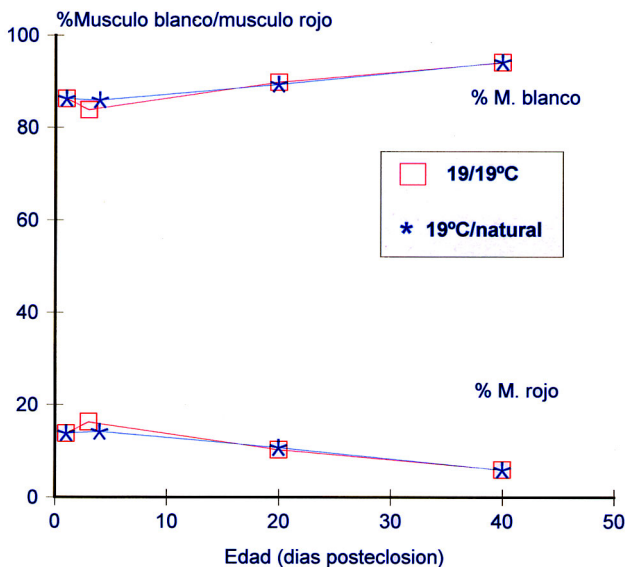
Durante esta etapa el porcentaje de músculo rojo fue disminuyendo gradualmente respecto al estadio prelarvario (Figura 6), alcanzando valores mínimos a los 40 días. Por otra parte, no se observó influencia de la temperatura sobre dicho parámetro.

DISCUSIÓN

Fase vitelina:

A la eclosión, el músculo blanco de las prelarvas de lubina mostró evidentes signos de inmadurez como miofibrillogénesis incompleta y posición central del núcleo, tal y como fue observado en esta especie por otros autores (VEGGETTI *et al.* 1990; RAMÍREZ-ZARZOSA *et al.* 1995, 1998; LÓPEZ-ALBORS *et al.* 1998). Dicha inmadurez está

Figura 6. Porcentaje de los músculos blanco y rojo a lo largo de la fase larvaria en ambos grupos experimentales. Media de 5 ejemplares por estadio y tanque.

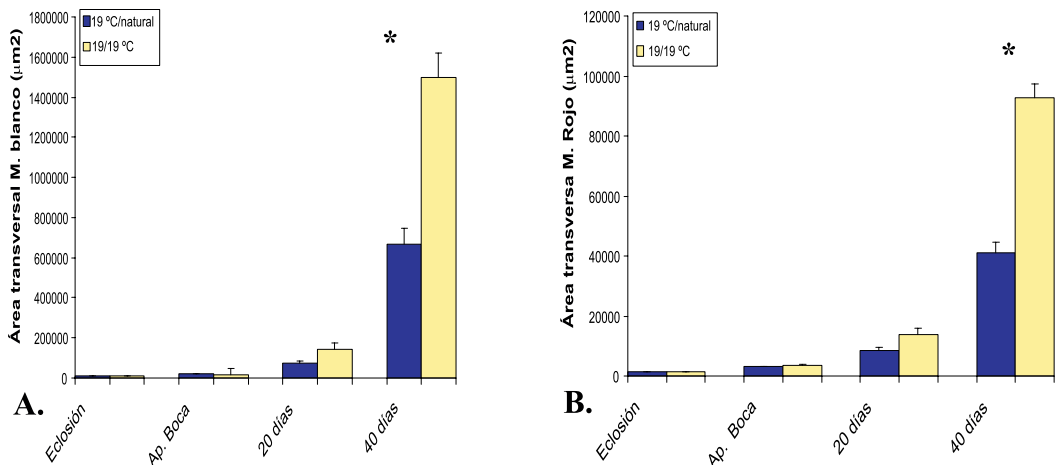


relacionada con el corto período de incubación característico de esta especie, y las altas temperaturas de incubación empleadas en este estudio (19°C) que redujeron aún más dicho período. Debido a la precocidad con que tiene lugar la eclosión a altas temperaturas dentro de cada especie, algunos autores consideran que la eclosión no delimita con exactitud el período embrionario del período prelarvario (KAMLER, 1992), ya que no supone la culminación de un estadio de desarrollo bien definido a nivel organogénico. Así, algunos autores incluyen la fase que comprende desde la eclosión hasta la apertura de la boca dentro del período embrionario (LAUGE *et al.* 1974, citado por KAMLER, 1992). No obstante crecimiento y metabolismo cambian virtualmente a la eclosión, por lo que la duración del período de incubación (desde la fertilización hasta la eclosión) sigue usándose generalmente como medida del efecto de la temperatura

sobre el desarrollo (KAMLER, 1992). Tras la eclosión, la fase vitelina finalizó antes en prelarvas cultivadas a alta temperatura, lo que muestra una clara correlación positiva entre el desarrollo y la temperatura, lo que ha sido ya observado en nuestros estudios previos (AYALA *et al.* 2000, 2001).

Al final de la fase vitelina, todos los ejemplares mostraron un considerable aumento del contenido miofibrilar de las fibras blancas, aunque muchas fibras aún presentaban núcleos en posición central. Durante esta etapa, las larvas dependen de las reservas energéticas del saco vitelino, que, a su vez, se reparten entre producción de tejido (desarrollo y crecimiento) y respiración (metabolismo). En nuestro estudio observamos que el miotomo muestra un escaso crecimiento durante esta fase, lo que indica, que gran parte de la energía disponible se dirige preferentemente a satisfacer las necesidades de desarro-

Figura 7. A,B) Área transversal de los músculos blanco y rojo desde la eclosión hasta los 40 días posteclosión en ambos grupos. Media + sem de 5 ejemplares por estadio y tanque. (*) indica las diferencias significativas.

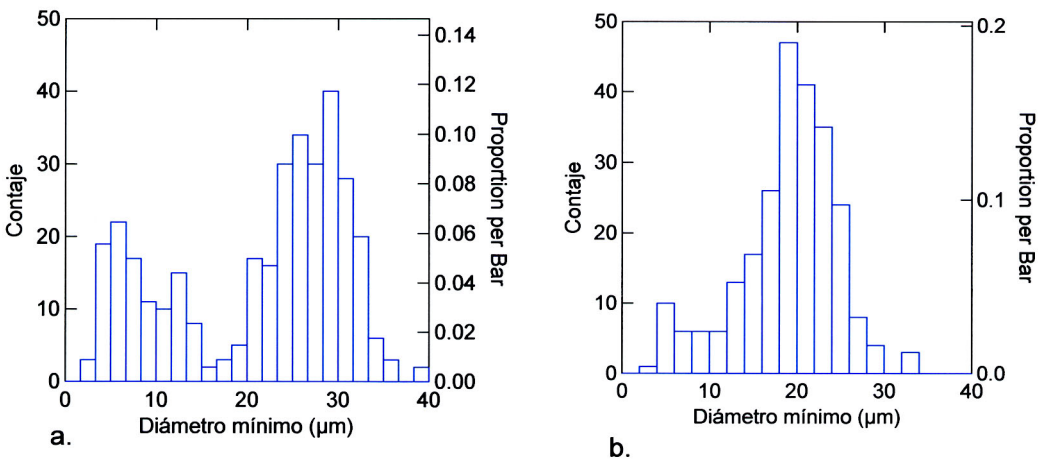


llo, tanto del músculo como de los otros tejidos corporales. El escaso crecimiento muscular tuvo lugar únicamente por hipertrofia fibrilar, mientras que el número de fibras permaneció prácticamente constante, lo que coincide con previos estudios en esta especie (AYALA *et al.* 2000, 2001). En otras especies, como el pargo, *Pagrus major* L., (MATSUOKA, 1984); el arenque, *Clupea harengus* L., (JOHNSTON, 1993; JOHNSTON *et al.* 1998) y el rodaballo, *Scophthalmus maximus* L., (GIBSON y JOHNSTON 1995), el crecimiento muscular durante esta fase fue también únicamente debido a la hipertrofia fibrilar. Una posible explicación a este hecho, sería que la síntesis proteica (hipertrofia fibrilar) es un método menos costoso, en términos de gasto energético, que la génesis de nuevas fibras, en un período en el que las reservas energéticas son limitadas, ya que no se recibe alimentación externa. Por el contrario, la hiperplasia fibrilar, asociada generalmente a fases de rápido crecimiento, ocurre principalmente cuando los ni-

veles nutricionales no están limitados y el pez puede adquirir toda la energía necesaria para la generación de nuevas fibras (USHER *et al.* 1994). En relación con lo expuesto, durante la fase vitelina el músculo aún no interviene en la natación continua, observándose únicamente actividades motrices estereotipadas, no orientadas (BARNABÉ 1991), tal y como ha sido observado también en otras especies, como en dorada, *Sparus aurata* L., por PATRUNO *et al.* (1998). Estos últimos autores señalan que la adquisición de la funcionalidad natatoria conlleva un aumento de la participación hiperplásica en el crecimiento del miotomo.

Por otra parte, la temperatura no influyó sobre la hipertrofia muscular de las prelarvas, coincidiendo con los resultados hallados en otro stock de esta especie (AYALA *et al.* 2000) y en el arenque (JOHNSTON *et al.* 1998). Sin embargo, en otros stocks de lubina (AYALA *et al.* 2001) y de otros teleósteos (solla, GIBSON y JOHNSTON, 1995) las prelarvas mantenidas a altas temperaturas mostraron

Figura 8. Histogramas del diámetro mínimo de las fibras blancas a los 40 días de 5 larvas cultivadas a 19°C (A) y a temperatura natural (B).



mayor hipertrofia fibrilar que aquellas cultivadas a menor temperatura. Estos resultados muestran una variabilidad intra- e interespecífica en la respuesta a la temperatura. Las características biológicas propias de cada especie, tales como el comportamiento alimenticio y natatorio durante los primeros estadios larvarios pueden explicar las diferencias interespecíficas (USHER *et al.* 1994). Asimismo, la variabilidad entre diferentes stocks de una misma especie podría ser atribuida a influencias parentales e interacciones genotipo-medioambiente (HERBINGER y NEWKIRK 1990; WILD *et al.* 1994; JOHNSTON 1999). Por otra parte, la temperatura tampoco influyó en la hiperplasia fibrilar durante esta fase, coincidiendo con los estudios previos en esta (AYALA *et al.* 2000, 2001) y otras especies (solla, GIBSON y JOHNSTON 1995; arenque, Johnston *et al.* 1998).

Durante esta etapa, las agallas son estructuras rudimentarias, y la monocapa de fibras rojas sirve de órgano temporal de intercambio de gas, lo que va acompañado de un alto % de dicho músculo respecto al total del miotomo durante esta etapa, tal y como se ha visto en ciprínidos (EL-FIKY *et al.* 1987) y en dorada (AYALA *et al.* 1999). De igual forma, en el presente trabajo, el % de músculo rojo de las prelarvas de lubina resultó ser mayor que en estadios posteriores. La disminución progresiva del % de músculo rojo del miotomo de la lubina tuvo lugar durante la fase larvaria, de forma paralela al desarrollo funcional de las agallas. Por otra parte, la temperatura no influyó sobre los valores de este parámetro, lo que coincide con los resultados hallados por USHER *et al.* (1994) en el salmón, *Salmo salar*.

Fase de alimentación exógena:

En estos estadios (20 y 40 días), las fibras blancas y rojas aparecían perfectamente diferenciadas, adquiriendo características morfológicas similares a las de los músculos blanco y rojo adulto, tal y como ha sido descrito en otros trabajos realizados en la lubina (SCAPOLO *et al.* 1988; VEGGETTI *et al.* 1990; RAMÍREZ-ZARZOSA *et al.* 1995; LÓPEZ-ALBORS *et al.* 1998). Asimismo, y coincidiendo con los estudios citados, la dinámica de crecimiento muscular se caracteriza por una intensa hipertrofia e hiperplasia fibrilar, con un claro predominio de la hiperplasia. La génesis de nuevas fibras se concentró en zonas concretas del miotomo: extremos epi e hipoaxiales, así como en la estrecha zona situada en el límite entre los músculos blanco y rojo, que se extiende desde el septo horizontal hasta las zonas apicales. De igual forma, comienzan a aparecer algunas fibras pequeñas entremezcladas en la zona intermedia del miotomo. En la fase postlarvaria, la aparición de estas fibras será el signo más constante de hiperplasia fibrilar, lo que presupone una continua activación de células miosatélites (RAMÍREZ-ZARZOSA *et al.* 1998).

Durante esta etapa, el miotomo experimentó un fuerte crecimiento en ambos grupos. La correlación positiva entre el rápido crecimiento y el elevado número de fibras de nueva generación observado durante este período, es característico de las especies que alcanzan un gran tamaño de adulto, cuyo rápido crecimiento ha sido asociado a la hiperplasia fibrilar (WEATHERLEY y GILL 1987; HIGGINS y THORPE 1990; PATRUNO *et al.* 1998). A su vez, el crecimiento característico de esta etapa coincide con un cambio en el comportamiento

alimentario y natatorio tras la reabsorción del saco vitelino de las larvas, que manifiestan una gran actividad natatoria relacionada con la búsqueda de alimento, tal y como ha sido descrito en la lubina (BARNABÉ 1991) y recientemente en dorada (PATRUNO *et al.* 1998). Por otra parte, el crecimiento de las larvas se vio influido por la temperatura de cultivo, de tal forma, que las larvas de 20 días cultivadas a 19°C mostraron un aumento significativo de la hiperplasia fibrilar, mientras que la hipertrofia no se vio influida por la temperatura. El hecho de que, en las larvas de lubina las altas temperaturas de cultivo influyan fundamentalmente sobre la génesis de nuevas fibras, coincide con la existencia de una correlación entre hiperplasia y velocidad de crecimiento (AYALA *et al.* 2001). No obstante, con el inicio del destete (40 días) tanto la hipertrofia como la hiperplasia fibrilares fueron significativamente mayores en larvas cultivadas a 19°C. Estos resultados muestran que el efecto de la temperatura sobre la dinámica de crecimiento durante esta etapa es diferente del observado en la fase vitelina, en la que el principal mecanismo de crecimiento fue la hipertrofia, y ésta no se vio influida por la temperatura. De igual forma, algunos estudios en el salmón ponen de manifiesto que, tras la reabsorción del saco vitelino, los mecanismos de crecimiento muscular y el efecto de la temperatura sobre ellos, difieren del comportamiento muscular en los estadios iniciales de desarrollo. Así, en esta especie, JOHNSTON y MCLAY (1997) encontraron que, durante el período de incubación, las altas temperaturas fueron acompañadas de una menor hipertrofia e hiperplasia fibrilares, pero en la fase larvaria, ambos parámetros aumentaron a altas temperaturas.

BIBLIOGRAFÍA

- AYALA M.D., LÓPEZ-ALBORS O., GIL F., RAMÍREZ-ZARZOSA G., ABELLÁN E., MORENO F. 1999. Red muscle development of Gilthead Sea Bream *Sparus aurata*, (L.): Structural and ultrastructural morphometry. *Anat. Histol. Embryol.*, 28: 17-21.
- AYALA M.D., LÓPEZ-ALBORS O., GIL F., LATORRE R., VÁZQUEZ J.M., GARCÍA-ALCÁZAR A., ABELLÁN E., RAMÍREZ G., MORENO F. 2000. Temperature effects on muscle growth of the axial musculature of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Anat. Histol. Embryol.*, 29: 235-241.
- AYALA M.D., LÓPEZ-ALBORS O., GIL F., GARCÍA-ALCÁZAR A., ABELLÁN E., ALARCÓN J.M., ÁLVAREZ M.C., RAMÍREZ-ZARZOSA G., MORENO F. 2001. Temperature effects on muscle growth in two populations (Atlantic and Mediterranean) of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*. 202: 359-70.
- BARNABÉ G. 1991. La cría de lubina y dorada. *Acuicultura*. Ed. Omega., Barcelona. 573-610.
- BROOKS S., JOHNSTON I.A. 1993. Influence of development and rearing temperature on the distribution, ultrastructure and myosin subunit composition of myotomal muscle fibre types in the plaice *Pleuronectes platessa*. *Mar. Biol.*, 117: 501-513.
- EL-FIKY N., HINTERLEITNER S., WIESER W. 1987. Differentiation of swimming muscles and gills, and development of anaerobic power in the larvae of cyprinid fish (Pisces, Teleostei). *Zoomorphology*, 107: 126-132.

- GIBSON S., JOHNSTON I.A. 1995. Temperature and development in larvae of the turbot *Scophthalmus maximus*. Mar. Biol., 124: 17-25.
- GREER-WALKER M. 1970. Growth and development of the skeletal muscle fibres of the cod (*Gadus morhua*, L.). J. Cons. perm. int. Explor. Mer., 33: 228-244.
- HERBINGER C.M., NEWKIRK, G.F. 1990. Sources of family variability for maturation incidence in cultivated Atlantic salmon. Aquaculture, 85: 153-162.
- HIGGINS P.J., THORPE J.E. 1990. Hyperplasia and hypertrophy in the growth of skeletal muscle in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). J. Fish Biol., 37: 505-519.
- JOHNSTON, I.A. 1993. Temperature influences muscle differentiation and the relative timing of organogenesis in herring (*Clupea harengus*) larvae. Mar. Biol., 116: 363-379.
- JOHNSTON I.A. 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. Aquaculture, 177: 99-115.
- JOHNSTON, I.A., MCLAY, H.A. 1997. Temperature and family effects on muscle cellularity at hatch and first feeding in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Can. J. Zool., 75: 64-74.
- JOHNSTON I.A., VIEIRA V.L.A., ABERCROMBY M. 1995. Temperature and myogenesis in embryos of the Atlantic herring *Clupea harengus*. J. Exp. Biol., 198: 1389-1403.
- JOHNSTON I.A., VIEIRA V.L.A., HILL J. 1996. Temperature and ontogeny in ectotherms: muscle phenotype in fish. In: Johnston, I.A.; Bennett, A.F. (Eds). Phenotypic and Evolutionary Adaptation of Organisms to Temperature. Soc. for Exp. Biol. Sem. Ser: Cambridge University Press, pp- 153-181.
- JOHNSTON I.A., COLE N.J., VIEIRA V.L.A., DAVIDSON I. 1997. Temperature and developmental plasticity of muscle phenotype in herring larvae. The J. Exp. Biol., 200: 849-868.
- JOHNSTON I.A., COLE N.J., ABERCROMBY M., VIEIRA V.L.A. 1998. Embryonic temperature modulates muscle growth characteristics in larval and juvenile herring. J. Exp. Biol., 201: 623-646.
- KAMLER E. 1992: Early life history of fish: an energetics approach. Chapman and Hall, 267 pp.
- LÓPEZ ALBORS O., GIL F., RAMÍREZ ZARZOSA G., VÁZQUEZ J.M., LATORRE R., GARCÍA ALCÁZAR A., ARENCIBIA A., MORENO F. 1998. Muscle development in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*, L.) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.): further histochemical and ultrastructural aspects. Anat. Histol Embryol., 27: 223-229.
- MASCARELLO F., ROWLERSON A., RADAELLI G., SCAPOLO P.A., VEGGETTI A. 1995. Differentiation and growth of muscle in the fish *Sparus aurata* L: I. Myosin expression and organization of fibre types in lateral muscle from hatching to adult. J. Muscle Res. Cell Motil., 16: 213-222.
- MATSUOKA M., IWAI T. 1984. Development of the Myotomal Musculature in the Red Sea Bream. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries., 50 (1): 29-35.
- NATHANAILIDES C., LÓPEZ ALBORS O., STICKLAND N.C. 1995. Influence of pre-hatch temperature on the

- development of muscle cellularity in posthatch Atlantic-Salmon (*Salmo salar*, L.). Can. J. Fish. Aqu. Sci., 52 (4): 675-680.
- ONTELL M. 1974. Muscle satellite cell: a validated technique for light microscopic identification and a quantitative study of changes in their population following denervation. Anat. Rec., 178: 211-228.
- PATRUNO M., RADAELLI G., MASCARELLO F., CARNEVALI M.D.C. 1998. Muscle growth in response to changing demands of functions in the teleost *Sparus aurata* (L.) during development from hatching to juvenile. Anat. Embryol., 198: 487-504.
- RAMÍREZ ZARZOSA G., GIL F., LATORRE R., ORTEGA A., GARCÍA ALCÁZAR A., ABELLÁN E., VÁZQUEZ J.M., LÓPEZ ALBORS O., ARENCIBIA A., MORENO F. 1995. The larval development of lateral musculature in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Cell Tissue Res, 280: 217-224.
- RAMÍREZ ZARZOSA G., GIL F., VÁZQUEZ J.M., ARENCIBIA A., LATORRE R., LÓPEZ ALBORS O., ORTEGA A., MORENO F. 1998. The post-larval development of lateral musculature en gilthead sea bream *Sparus aurata* (L.) and sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) Anat. Histol. Embryol., 27: 21-29.
- SCAPOLO P.A., VEGGETTI A., MASCARELLO F., ROMANELLO M.G., 1988. Developmental transitions of myosin isoforms and organisation of the lateral muscle in the teleost *Dicentrarchus labrax* (L.). Anat. Embryol., 178: 287-295.
- STICKLAND N.C. 1983. Growth and development of the muscle fibres in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Anat., 137 (2): 323-33.
- STICKLAND N.C., WHITE R.N., MESCALL P.E., CROOK A.R., THORPE J.E. 1988. The effect of temperature on myogenesis en embryonic development of the Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). Anat. Embryol., 178: 253-257.
- USHER M.L., STICKLAND N.C., THORPE J.E. 1994. Muscle development in Atlantic salmon (*Salmo salar*) embryos and the effect of temperature on muscle cellularity. J. Fish Biol., 44: 953-964.
- VEGGETTI A., MASCARELLO F., SCAPOLO P.A., ROWLERSON A. 1990. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle in *Dicentrarchus labrax* (L.): An ultrastructural and morfometric study. Anat. Embryol., 182: 1-10.
- VIEIRA V.L.A., JOHNSTON I.A. 1992. Influence of temperature on muscle-fibre development in larvae of the herring *Clupea harengus*. Mar. Biol., 112: 333-341.
- WEATHERLEY A.H., GILL H.S. 1987. The Biology of fish growth. London: Academic press, 443 pp.
- WILD V., SIMIANER H., GJOEN H.M., GJERDE B. 1994. Genetic parameters and genotype-environment interaction for early sexual maturity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 128: 51-65.