

ACIDOS NUCLEICOS EN LA MUSCULATURA BLANCA Y ROJA DE JUVENILES DEL PEZ ROJO *SCIAENOPS OCELLATUS*

K. S. CHUNG

Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela

M. NIRCHIO

Escuela de Ciencias del Mar, Universidad de Oriente, Isla de Margarita, Venezuela

G. J. HOLT & C. R. ARNOLD

Marine Science Institute, The University of Texas at Austin, Port Aransas, Texas 78373, USA.

RESUMEN: Mediante el método enzimático secuencial de fluorescencia para la determinación de ARN y ADN y el método del "Coomassie Blue" para las proteínas, se analizaron las concentraciones de los ácidos nucleicos y proteínas en la musculatura blanca y roja de juveniles de varias tallas del pez rojo *Sciaenops ocellatus*. El contenido de ARN y ADN fue mayor en el tejido rojo que en el blanco, mientras que en el músculo blanco los valores de proteínas fueron superiores. La relación ARN/ADN en peces pequeños fue superior a la de los grandes, indicando que la tasa de crecimiento es más rápida en los primeros.

ABSTRACT: Nucleic acid and protein concentrations of the white and red muscles of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) juveniles of various sizes were analyzed by sequential enzymatic method of fluorescence to determine RNA and DNA values, and Coomassie Blue method for protein contents. The concentrations of RNA and DNA were greater in the red muscle than in the white muscle, while protein values of the white muscle were superior to those of the red muscle. The RNA/DNA ratio of small fish was higher than that of big fish, indicating that growth rate of the small fish is faster than that of big fish.

INTRODUCCION

La información genética de la células, contenida dentro de los núcleos y codificada en la secuencia de nucleótidos de la doble hélice del ácido desoxiribonucleico (ADN), se hace funcionalmente disponible a través de la síntesis de moléculas complementarias de ácido ribonucleico (ARN), las cuales son transferidas al citoplasma donde sirven de molde para la biosíntesis de las proteínas. En consecuencia, el estudio de la evolución de los ácidos nucleicos en los tejidos de los individuos durante todas las etapas de su desarrollo, reviste especial interés para obtener una mejor comprensión de la fisiología de los organismos (STEIN & STEIN, 1976).

Se han realizado pocos trabajos relacionados con los ácidos nucleicos contenidos en los diferentes tejidos de peces, y aquellos han hecho énfasis en el contenido de ARN y ADN en los diferentes tipos de tejido musculares (JAFRI & MUSTAFA, 1976 a y b; MUSTAFA & JAFRI, 1976), así como también a la relación entre el ARN y el ADN, y el crecimiento y desarrollo (BULLOW, 1970; HAINES, 1973; MUSTAFA, 1977; BUCKLEY, 1984; WRIGTH & MARTIN, 1985; FUKUDA *et al.*, 1986).

BULLOW (1970) ha propuesto que la proporción ARN/ADN pueda usarse como índice de crecimiento en los peces. Debido a que la cantidad de ADN por célula se mantiene constante, la relación ARN/ADN indica la can-

tividad de moléculas de ADN (BUCKLEY, 1984). Por lo tanto, esta relación puede ser utilizada como un índice de actividad metabólica más preciso que la simple determinación de ARN, por cuanto la relación antes señalada no es afectada por las diferencias en el número de células (HOTCHKISS, 1955).

El propósito de este trabajo es obtener información acerca de la variación de la concentración de ácidos nucleicos, proteínas y la relación ARN/ADN en el músculo rojo y blanco de ejemplares juveniles del pez rojo (*Sciaenops ocellatus*) de diferentes tallas.

MATERIALES Y METODOS

Los peces utilizados para el presente estudio fueron colectados a partir de un stock de juveniles obtenidos por reproducción inducida, en el Laboratorio Marino de la Universidad de Texas (Port Aransas, Texas, E.E.U.U).

El desove se obtuvo en agua de mar natural, mediante control de temperatura y fotoperíodo (ARNOLD, 1978). Posteriormente, los alevines se colocaron en tanques con sistema cerrado de agua dulce y aereación constante, donde fueron cultivados durante tres meses.

Una vez alcanzada la talla apropiada, los peces fueron extraídos del estanque e inmediatamente fueron congelados en hielo seco con alcohol 95%, previa determinación de la longitud estandar en mm (LT) y el peso húmedo en gramos (P). Los ejemplares se almacenaron bajo congelación a una temperatura de -80°C hasta el momento de efectuar los análisis de proteínas y ácidos nucleicos en los tejidos. Las muestras de músculos blanco fueron obtenidas en la región epiaxial, a nivel de la primera aleta dorsal mientras que el tejido rojo se obtuvo en la parte inferior de la línea lateral.

La cuantificación de proteínas se realizó siguiendo la metodología descrita por BRADFORD (1976) y la de ácidos nucleicos se efectuó con la técnica de determinación

secuencial de ADN y ARN (BENTLE *et al.*, 1981).

RESULTADO Y DISCUSION

La concentración de ARN, ADN y proteínas y la relación ARN/ADN para los tejidos analizados se indica en la tabla I. La concentración de ARN y ADN fue mayor en el músculo rojo que en el músculo blanco, mientras que la concentración de proteínas y la relación ARN/ADN mostró una tendencia contraria.

En la figura 1 se observa que la concentración de ADN por el peso de tejido se mantiene constante a lo largo de las tallas estudiadas, aunque en el músculo rojo los niveles de ADN son ligeramente mayores que en el blanco.

Debido a que la concentración de ADN por el peso estandarizado está relacionada con el número de células existentes en la muestra de tejido, la mayor cantidad de ADN detectada en el músculo rojo hace suponer que las fibras de este tejido son más pequeñas que las del músculo blanco y por consiguiente, para el mismo peso de tejido el número de células, mayor número de núcleos, razón por la cual al incrementar la cantidad de ADN, la relación ARN/ADN disminuye (Fig 2).

Desafortunadamente, en este trabajo no se realizaron observaciones microscópicas de cortes de tejidos musculares. Sin embargo, estudios hitofisiológicos realizados en el escombrido *Rastrelliger kanagurta* (GEORGE, 1962) han revelado que las fibras del músculo rojo tienen un diámetro promedio de 32 μm , mientras que las del músculo blanco poseen un diámetro medio de 65 μm , lo cual parece sustentar la anterior suposición.

La mayor concentración de ARN en el músculo rojo que en el músculo blanco ha sido asociada a la actividad metabólica del tejido (JAFRI & MUSTAFA, 1976). Trabajos realizados en teleósteos han mostrado que el músculo rojo es muy contráctil y se presenta comúnmente en

TABLA 1.- CONCENTRACION DE ACIDOS NUCLEICOS ($\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$), PROTEINAS ($\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$) y RELACION ARN/ADN EN EL MUSCULO BLANCO Y MUSCULO ROJO DE *SCIAENOPS OCELLATUS*.

Tejido	ARN	ADN	Proteínas	ARN / ADN
Músculo rojo	2.274 \pm 0.40	0.319 \pm 0.05	127.88 \pm 27.70	8.48 \pm 2.12
Músculo blanco	2.224 \pm 0.70	0.113 \pm 0.02	162.63 \pm 51.99	20.58 \pm 5.13

Acidos nucleicos en la musculatura blanca y roja de juveniles del Pez Rojo.

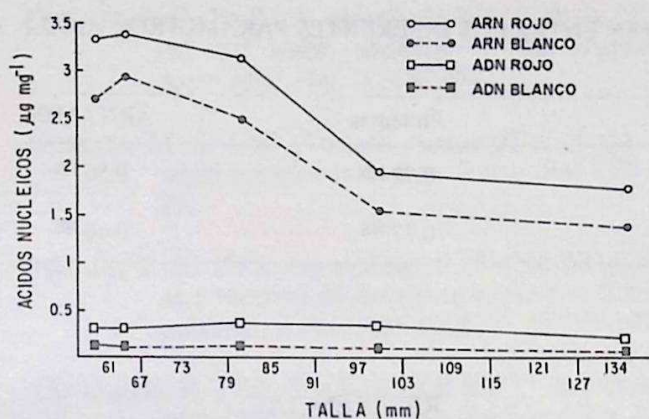


Fig. 1.- Variación de la concentración de ácidos nucleicos en relación a la talla.

peces en los que se dan con frecuencia situaciones que requieren actividad prolongada (RAYNER & KEENAN, 1967). En la mayoría de los peces las fibras blancas constituyen entre el 80-95% de la musculatura involucrada en la natación, y las fibras rojas a menudo se encuentran en las capas musculares superficiales inmediatamente bajo la piel formando un triángulo a nivel de la línea lateral. Además, en las especies clasificadas como muy activas se encuentra una masa adicional de tejido muscular rojo de la columna (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978).

En base a estudios bioquímicos e histológicos se ha establecido que al contrario del músculo blanco, el músculo rojo tiene un alto contenido de grasa y del complejo vitamínico B (BRAEKKAN, 1956) y presenta un metabolismo predominantemente aeróbico, mediante el cual se obtiene la energía requerida para mantener temperaturas relativamente elevadas, durante los desplazamientos sostenidos a altas velocidades por los peces por la conversión enzimática de las grasas en ácidos grasos (GEORGE, 1962). Además, presenta una elevada actividad enzimática de las fosfatasas involucradas en la hidrólisis de compuestos fosforilados, carbohidratos y fosfolípidos (JAFRI & MUSTAFA, 1976 b).

Por otro lado, estudios electrofisiológicos han mostrado que durante la actividad notoria lenta, la fuerza de propulsión es derivada enteramente de la musculatura roja, mientras que a altas velocidades, la actividad del músculo blanco alcanza el máximo y en conjunto con la musculatura roja se obtiene el poder para la locomoción BONE (1966) y HUDSON (1973).

Al parecer, la principal función del músculo blanco en los peces es actuar como fuente de energía poderosa, pero limitada, para los movimientos vigorosos durante

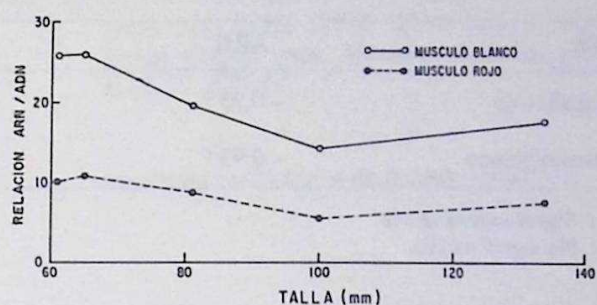


Fig. 2.- Relación ARN/ADN en los diferentes tejidos musculares y tallas.

la captura de sus presas o para el escape del acecho del predador (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978).

De todo lo anterior se desprende que el músculo rojo no posee como función principal el trabajo muscular, sino que mas bien parece cumplir con la función de proveer los compuestos energéticos utilizables por la musculatura circundante.

SMITH & HASCHEMEYER(1980) han demostrado mediante infusión constante de tirosina marcada, que la síntesis de proteínas en el músculo rojo excede a la del músculo blanco. En este orden de ideas se explicaría entonces la mayor concentración de ARN en el músculo rojo ya que la elevada tasa de síntesis proteica asociada a la actividad del tejido requeriría de gran cantidad de ARN para poder cumplir con el proceso de biosíntesis de las diferentes proteínas funcionales y estructurales desde la traducción de la información en el ADN nuclear hasta la obtención de los productos finales.

Sin embargo, la mayor proporción de ácidos nucleicos en el músculo rojo parece constatar con los valores menores de proteínas y de la relación ARN/ADN (Tabla 1). Como fue mencionado anteriormente, el músculo rojo parece ser más activo que el blanco, desde el punto de vista del metabolismo que mantiene cada uno de esos tejidos. En consecuencia, cabe la posibilidad de que en el músculo rojo el gasto energético para cumplir con las demandas metabólicas del tejido sean tan elevadas que no permitan el almacenamiento de reservas proteicas, sino más bien son utilizadas en la síntesis de proteínas enzimáticas. Por otro lado, en el músculo blanco la actividad metabólica relativamente reducida, les permite a las células del tejido acumular reservas proteicas para ser utilizadas para el crecimiento en volumen. De ser cierta tal

TABLA 2.- CORRELACION PRODUCTO MOMENTO DE SPERMAN ENTRE LOS DIFERENTES PARAMETROS ANALIZADOS Y LA TALLA.

Tejido	ARN	ADN	Proteínas	ARN / ADN
Músculo rojo	-0.93 *	-0.49 NS	0.72 NS	0.56 NS
Músculo blanco	-0.93 *	-0.89 NS	0.77 NS	0.46 NS

* : Significativo al 5%

NS: No significativo

suposición, cabría esperar que a la cantidad de ARN por molécula de ADN fuese menor en el tejido muscular rojo, ya que las proteínas sintetizadas serían en su mayoría de tipo funcional (enzimas), mientras que en el músculo blanco, aquellas serían estructurales.

Tal como puede apreciarse en la figura 1, la concentración de ARN disminuye en peces de mayor tamaño. Dicha relación inversa se manifiesta de manera similar en los tejidos analizados, y la correlación negativa ($P < 0.05$) así lo indica la Tabla 2. Esta relación podría explicarse asociando la concentración de ARN al grado de actividad metabólica durante las diferentes etapas de crecimiento en el pez.

Es bien conocido que en los organismos el crecimiento se ajusta a una curva exponencial, en la cual el incremento en talla es muy acelerado en las primeras etapas de vida, para luego tomarse más o menos asintótico. Consecuentemente, en peces pequeños el crecimiento es más veloz y por lo tanto la actividad metabólica es superior. Por consiguiente, debido a que las necesidades fisiológicas involucradas en el crecimiento durante esta etapa del desarrollo requieren de una mayor velocidad de biosíntesis de ARN se explicarían los mayores niveles de aquél en peces pequeños. Tal suposición se ve reforzada por el coeficiente de correlación negativo ($P < 0.05$) entre talla y concentración de ARN que se indica en la tabla 2.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su sincero agradecimiento a los auxiliares técnicos NANCY WOHLSCHLAG y JEANY GONZALEZ por efectuar los análisis químicos y labores rutinarias. A los dos árbitros anónimos por la lectura crítica del manuscrito. Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (CI-5-19-00174/85-86) y Centro de Maricultura del Marine Science Institute, The University of Texas at Austin, Port Aransas, Texas, por el financiamiento parcial de esta investigación.

REFERENCIAS

- ARNOLD, C. R. 1978. Maturation and spawning of marine finfish. In *Proceedings of the Seventh US-Japan Meeting on Aquaculture* (Ed. Carl J. Sinderman), Tokyo, Japan, October 3-4, 1978, P. 25-27. NOAA Tech. Rep. NMFS 10.
- BENTLE, L. A., S. DUTTA & METCOFF. 1981. The sequential enzymatic determination of DNA and RNA. *Anal. Biochem.* 116: 5-16.
- BONE, O. 1966. On the function of the two types of myotomal muscle fibre in elasmobranch fish. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 46: 321-349.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- BRAEKKAN, O. R. 1956. Function of the red muscle in fish. *Nat.* 178: 747-748.
- BULLOW, F. J. 1970. RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of a fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 27: 2343-2349.
- BUCKLEY, L. J. 1984. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Mar. Biol.* 80: 291-298.
- DRIEDZIC, W. R. & P. W. HOCHACHKA. 1978. Metabolism in fish during exercise. In *Fish Physiology* (Ed. W. S. Hoar & D. J. Randall) Vol. VII. Academic Press, New York, P. 503-543.
- FUKUDA, M., H. NAKANO & K. YAMAMOTO. 1986. Biochemical changes in Pacific herring during early development stages. *Bull. Facult. Fish. Hokkaido Univ.* 37: 30-37.

- GEORGE, J. C. 1962. A histophysiological study of the red and white muscles of the mackerel. *Amer. Midl. Nat.* 68: 487-494.
- GORDON, M. S. 1968. Oxygen consumption of red and white muscles from tuna fishes. *Sci.* 159: 87-89.
- HAINES, T. A. 1973. An evaluation of RNA-DNA ratio as a measure of long term growth in fish populations. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 30: 195-199.
- HOTCHKISS, R. 1955. The biological role of deoxypentose nucleic acids. In: *The Nucleic Acids, Chemistry and Biology* (Ed. E. Chargaff & J. Davidson) Vol. II. Academic Press, New York, P. 435-473.
- HUDSON, R. C. L. 1973. On the function of the white muscles in teleosts at intermediate swimming speeds. *J. Exp. Biol.* 58: 509-522.
- JAFRI, A. K. & S. MUSTAFA. 1976a. Nucleic acids in the dark and white muscles of a freshwater carp, *Bartus stigma* (Cuv. and Val.). *Current Sci.* 45: 415-416.
- JAFRI, A. K. & S. MUSTAFA. 1976b. Phosphatases & 5'-nucleotidase in the dark & white muscles of two freshwater cat-fish *Clarias magur* (Linn) & *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Ind. J. Exp. Biol.* 14: 292-294.
- MUSTAFA, S. & A. K. JAFRI. 1976. Dynamic of nucleic acid turnover in the dark and white muscles of catfish, *Mistus vitatus* (Bloch) during growth in the prematurity phase. *Zool. Anz. Jena.* 196 (3/4): 237-240.
- MUSTAFA, S. 1977. Nucleic acid turnover in the dark and white muscles of some freshwater species of carp during growth in the prematurity phase. *Copeia* 1977: 173-176.
- RAYNER, M. D. & M. J. KEENAN. 1967. Role of red and white muscles in the swimming on the skipjack tuna. *Nat.* 214: 392-393.
- STEIN, G. & J. STEIN. 1976. Chromosomal proteins: Their role in the regulation of gene expression. *Biosci.* 26: 488-494.
- SMITH, M. A. K. & A. E. V. HASCHEMEYER. 1980. Protein metabolism and cold adaptation in antarctic fishes. *Physiol. Zool.* 53: 373-382.
- WRIGHT, D. A. & F. D. MARTIN. 1985. The effect of starvation on RNA: DNA ratios and growth of larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Fish Biol.* 27: 479-485.

(Manuscrito recibido el 4 de Julio de 1988).