



Datos preliminares sobre tipificación fibrilar

Estudio histoquímico del músculo longísimo lumbar del cerdo negro canario

Jésica Morales¹, Marisa Andrada², Alberto Arencibia¹, Oscar Quesada², Francisco Gil³, Aridany Suárez-Trujillo¹ y Miguel A. Rivero¹

¹ Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

² Instituto de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

³ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

Sumario

El cerdo negro canario es la única raza porcina autóctona de las Islas Canarias tradicionalmente explotado en un sistema intensivo no industrial, la cual se encuentra en peligro de extinción debido a sus escasos efectivos y al abandono y los sucesivos cruces con razas comerciales a los que ha estado sometida durante la segunda mitad del pasado siglo. El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización morfológica de las fibras musculares del músculo longísimo lumbar del Cerdo Negro Canario procedente de explotaciones de la isla de Gran Canaria. Se tomaron muestras del músculo longísimo lum-

bar de 6 cerdos que, una vez procesadas, se les aplicaron las reacciones de la mATP-asa y de la NADH-TR. En relación al porcentaje fibrilar, las fibras glucolíticas IIB fueron las más abundantes (75,35%), seguidas de las tipo I (14,14%) oxidativas y tipo IIA (10,51%) de metabolismo oxidativo-glucolítico. Respecto al tamaño, en la raza estudiada, se sigue la relación IIB > I > IIA. Asimismo, se han observado algunas "fibras gigantes" de mayor tamaño que el resto en unos porcentajes muy bajos por lo que no deben influir en la presencia de carnes anómalas. Los resultados obtenidos servirán como estudio preliminar para futuros trabajos que abarquen poblaciones procedentes de la tota-

lidad del Archipiélago Canario, contribuyendo a conocer algunas de las características tecnológicas que intervienen en la calidad de la carne de esta raza.

Palabras clave: Cerdo negro canario, fibra muscular, histoquímica, calidad de carne.

Introducción

El cerdo negro canario, también llamado cochino negro por los ganaderos locales, es la única raza porcina autóctona de las Islas Canarias, que está catalogada por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio rural y Marino como Raza de Protección Especial en peligro de extinción (RD 1682/1997) por encontrarse en vías de desaparición. Según varias fuentes, el origen es algo incierto, destacando en su formación cerdos procedentes del tronco ibérico (cerdo murciano primitivo) así como razas inglesas y cerdos norteafricanos (García y Capote, 1982). Esta raza se caracteriza por presentar canales de colores más rojizos y engrasadas que las razas comerciales, así como un crecimiento más lento, por lo que la edad de sacrificio es mayor que en cruces de cerdos blancos. El Cerdo Negro Canario es un animal con grandes caracteres de rusticidad que le proporcionan una excelente adaptación al medio en que vive. En su morfología destacan una piel oscura, sin manchas y con numerosas arrugas, especialmente apreciables en las regiones de la cara, pierna y brazo; así como unas orejas largas y caídas en pendiente (García y Capote, 1982).

A mitad del pasado siglo, con el auge de los cruces comerciales con cerdos blancos y la aparición de los sistemas intensivos industriales, esta raza estuvo a punto de desaparecer pero, actualmente, gracias al esfuerzo conjunto de algunos ganaderos agrupados en la Asociación del Cerdo Negro Canario y de las diferentes administraciones regionales, las poblaciones van en aumento, teniendo como objetivo recuperar esta raza para preservar el patrimonio genético de la misma y producir productos genuinos de alta calidad muy valorados por el consumidor. Es por ello la necesidad de realizar estudios científicos adecuados que permitan al Cerdo Negro Canario competir en el mercado con otras razas porcinas.

En la Comunidad Autónoma de Canarias, la provincia de Santa Cruz de Tenerife posee un



Figura 1. Ejemplar de Cerdo Negro Canario mostrando los rasgos morfológicos típicos de esta raza.

mayor número de cabezas y diversidad genética, gracias a los esfuerzos del Excmo. Cabildo Insular de Tenerife, respecto a la provincia de Las Palmas, donde la raza ha estado a punto de desaparecer casi por completo. Entre ambas provincias no habido circulación de animales en los últimos años debido a la presencia del virus de Aujeszky en la provincia de Santa Cruz de Tenerife, estando Las Palmas libre de dicha enfermedad. En esta última es donde hemos realizado el trabajo, por lo que los resultados aquí presentes servirán como referencia inicial para futuros estudios que abarquen la totalidad del Archipiélago Canario.

Las razas porcinas autóctonas presentan en el músculo longísimo lumbar una mayor proporción de fibras de metabolismo oxidativo y fibras de metabolismo oxidativo-glucolítico en relación a los cruces comerciales. Debido a la presencia de estos dos tipos de fibras, las canales de los cerdos de razas autóctonas presentan una coloración más rojiza y almacenan mayor cantidad de grasa, factores ambos muy apreciados por los consumidores. Es por ello que la calidad de la carne ha sido asociada frecuentemente con los tipos histoquímicos de fibras en la especie porcina (Essén-Gustavsson y Fjelkner-Modig, 1985; Larzul et al., 1997; Maltin et al., 1997; Serra et al. 1998; Eggert et al., 2002; Fiedler et al., 2003; Chang et al., 2003; Ryu y Kim, 2005; Gil et al., 2008). De acuerdo con la actividad enzimática de la ATPasamiosínica (Brooke y Kaiser, 1970), las fibras musculares del cerdo han sido clasificadas según el grado de intensidad tintorial que presentan como fibras tipo I, tipo IIA y tipo IIB (Essén-Gustavsson y Lindholm, 1984; Lefaucheur et al., 1991; Karlsson, 1993; Larzul

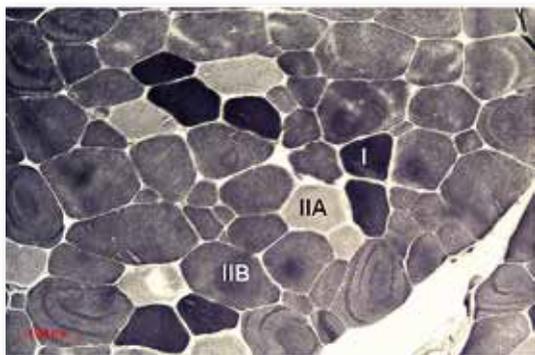


Figura 2. Tipos de fibras identificados mediante la técnica mATPasa a pH 4,6 donde se observan las fibras tipo I (tinción oscura), las fibras tipo IIA (tinción clara) y las fibras tipo IIB (tinción intermedia).

et al., 1997; Serra et al., 1998; Ryu y Kim, 2005). Las fibras tipo I presentan una mayor actividad de la enzima mATPasa a pH ácido, que se refleja con una mayor intensidad en la tinción, en contraposición con las fibras tipo II. Dentro de estas, las fibras tipo IIA muestran una escasa intensidad en la tinción y, en las fibras tipo IIB, se observa una tinción intermedia. En relación al metabolismo energético (Klont et al., 1998), las fibras tipo I, de contracción lenta, presentan un claro potencial oxidativo, en contraposición con las fibras tipo IIB, de contracción rápida y glucolíticas, quedando en posición intermedia las fibras tipo IIA (de contracción rápida, oxidativas-glucolíticas). Sin embargo, en el cerdo, las fibras tipo IIB son metabólicamente heterogéneas (Larzul et al. 1997) integradas por fibras puras IIX, fibras híbridas y un escaso número de fibras IIB puras (Toniolo et al, 2004).

El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización morfológica y morfométrica de las fibras musculares de músculo longísimo lumbar del Cochino Negro Canario procedente de explotaciones de la isla de Gran Canaria, lo cual servirá como estudio preliminar para futuros trabajos que abarquen poblaciones procedentes de la totalidad del Archipiélago Canario, contribuyendo así a conocer algunas de las características tecnológicas que intervienen en la calidad de la carne de esta raza.

Materiales y métodos

Seis cerdos pertenecientes a la raza Cochino Negro Canario (Fig. 1) de diferentes explotaciones de la isla de Gran Canaria con un peso vivo medio de 108,66 kg, fueron sacrificados en matadero comercial según la normativa publi-

cada en el Real Decreto 1728/1987. La toma de muestras se realizó en la cadena de sacrificio una vez faenado el animal, obteniéndose una porción del músculo longísimo lumbar a nivel de la última costilla. De cada porción se tomaron dos fragmentos de aproximadamente 1cm de longitud y 0,5 cm de grosor y anchura, que fueron orientados para ser cortados en plano transversal (Gil et al., 2001). Las muestras, tras ser recubiertas con OCT-Compound (Tissue-Tek®), fueron congeladas en 2-metilbutano previamente enfriado en nitrógeno líquido (Dubowitz et al., 1985). Una vez congeladas, estas fueron conservadas a -70°C y posteriormente procesadas con un criostato a una temperatura de -20°C con el fin de obtener 15 cortes seriados de 5 µm de grosor.

Para determinar las características contráctiles y demostrar la actividad metabólica de las fibras musculares se utilizaron las reacciones histoquímicas para la detección de la ATP-asa miosínica (mATP-asa) y la reacción de la nicotinamida adenina dinucleotidotetrazoliumreductasa (NADH-TR).

La detección de la actividad de la mATP-asa se realizó frente a preincubación ácida a pH 4,6 para determinar la capacidad contráctil, según el protocolo de Snow et al. (1982) modificado por Latorre et al. (1993) y aplicado en el cerdo por Gil et al. (2001). La reacción NADH-TR se realizó para la evaluación del potencial oxidativo de las fibras en base a sus características metabólicas (Dubowitz et al., 1985).

Posteriormente se realizó un análisis morfométrico de las fibras musculares utilizando un sistema de análisis interactivo de imágenes (Image-Pro Plus®) para la obtención del porcentaje y área de los distintos tipos de fibras, así como el porcentaje de área ocupada en su sección transversal. En cada sección muscular se analizaron al menos 150 fibras, y en relación al porcentaje, se contaron no menos de 200 fibras en campos elegidos al azar para su obtención (Karlsson, 1993). Una vez obtenido los datos, estos se procesaron en el programa Excel 7.0 a fin de obtener los estadísticos descriptivos.

Resultados

Con la detección de la mATPasa fueron fácilmente diferenciadas según el grado de intensidad tintorial, tres tipos de fibras (Fig. 2): las

fibras tipo I (actividad mATPasa ácido estable, tinción intensa, contracción lenta), las fibras tipo IIA (actividad mATPasa ácido lábil, tinción escasa, contracción rápida) y las fibras tipo IIB (actividad mATPasa moderadamente ácido-estable, tinción intermedia, contracción rápida). Debido a que el tejido conjuntivo no presenta actividad de la mATPasa, se pudo diferenciar con claridad los contornos individuales de cada tipo de fibra y así estimar parámetros relacionados con su tamaño y proporciones.

La reacción NADH-TR nos permitió clasificar tres tipos de fibras: las fibras que presentan una fuerte tinción como oxidativas (Fig. 3, flecha roja), las fibras escasamente teñidas como glucolíticas (Fig. 3, flecha azul) y las fibras que presentan una tinción intermedia como oxidativas-glucolíticas (Fig. 3, flecha negra). Comparando las secciones transversales teñidas obtenidas por ambas técnicas (NADH-TR y mATPasa), se observa cómo las fibras de naturaleza oxidativa corresponden con las fibras tipo I y tipo IIA, mientras que las fibras que presentan un potencial claramente glucolítico se corresponden con las fibras tipo IIB (Fig. 4). Además, se puede observar que un bajo porcentaje de las fibras tipo IIB presentaron cierta capacidad oxidativa sin alcanzar el grado de tinción de las fibras tipo I y IIA (Fig. 4, asterisco). Los fascículos musculares presentan una distribución fibrilar muy organizada, con una zona central ocupada por fibras oxidativas lentas (tipo I) y oxidativas rápidas (tipo IIA), rodeadas a su vez, por fibras glucolíticas de contracción rápida (tipo IIB) situadas en toda la periferia del fascículo.

Los resultados obtenidos en cuanto al porcentaje fibrilar y tamaño de cada tipo de fibra se pueden observar en la tabla I. Las fibras glucolíticas IIB representaron el 75,35 % de la población, predominando frente al resto de fibras; les siguen, ya en menor proporción, las fibras tipo I, que suponen el 14,14 % y las fibras tipo IIA con porcentaje de 10,51% (Gráfica 1). Respecto al área, hemos observado que en la raza estudiada se sigue la relación $IIB > I > IIA$, destacando el gran tamaño que ostentan las fibras IIB en comparación con los otros tipos de fibras (I, IIA), las cuales presentan un tamaño similar (Gráfica 2). En relación al porcentaje de área ocupada (Tabla II), las fibras tipo IIB ocupan un 76% del área total de cada fascículo muscular.

Por último, con las diferentes técnicas empleadas hemos podido visualizar algunas "fibras gigantes", diferenciadas del resto de las fibras por

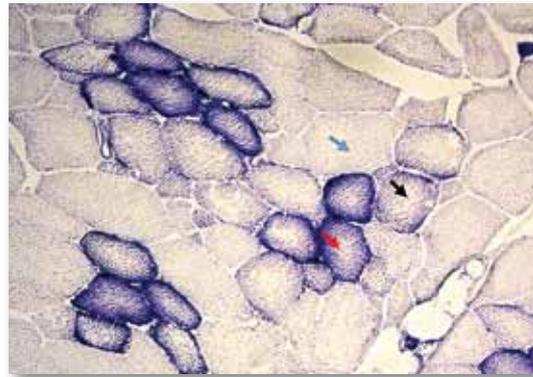


Figura 3. Tinción con la técnica del NADH-TR. Se observan fibras oxidativas con tinción intensa (flecha roja), fibras de tinción intermedia de tipo oxidativas/glucolíticas (flecha negra), y fibras glucolíticas con tinción clara (flecha azul) que aparecen en mayor número.

presentar, en su sección transversal, un mayor tamaño y perfiles más ovalados o circulares, que destacan del resto de las células situadas a su alrededor, encontrándose normalmente en la periferia de los fascículos; asimismo se caracterizan por un incremento de la actividad mATPasa y NADH. En general, dichas células se correspondieron con fibras tipo IIB, estando presentes en escasas proporciones (<3%) en un 25% de los animales analizados (Fig. 5).

Discusión

Los tipos de fibras encontrados en el Cerdo Negro Canario mediante la detección de la actividad de la mATPasa fueron similares a los encontrados en otras razas porcinas, clasificadas como fibras tipo I, fibras tipo IIA y fibras tipo IIB (Brook and Kaiser, 1970; Lefaucheur et al., 1991; Larzul et al., 1997; Serra et al., 1998; Gil et al., 2001, 2008; Ryu y Kim, 2005).

La determinación del tamaño y el porcentaje de los distintos tipos de fibras es de gran utilidad para establecer posibles relaciones entre las mismas y la calidad de la carne porcina (Larzul et al., 1997; Maltin et al., 1997; Chang et al., 2003; Ryu y Kim, 2005). En la raza estudiada las fibras tipo IIB son las más numerosas (75,35 %), seguidas por las fibras tipo I (14,14 %) y, por último, las fibras tipo IIA en menor proporción (10,51 %). Resultados similares fueron encontrados en otros trabajos realizados en razas porcinas autóctonas españolas (Serra et al., 1998; Peinado et al., 2004, 2009). No obstante, el porcentaje de fibras IIB obtenido en el Cerdo Negro Canario es un 10,19% menor que el obtenido en el Cerdo Ibérico por Serra et al. (1998) y

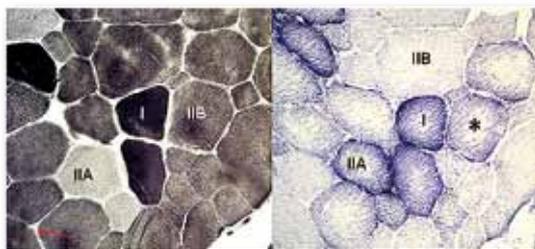


Figura 4. Secciones transversales seriadas teñidas con las técnicas mATPasa a pH 4,6 (izquierda) y NADH-TR (derecha). Las fibras tipo I y IIA presentan una elevada capacidad oxidativa, en contraste con la mayoría de fibras IIB. En algunas de estas últimas fibras se observa una moderada actividad oxidativa (*).

un 2,16% que el encontrado en el Chato murciano por Peinado et al. (2004, 2009). Siendo este un resultado destacable en nuestro trabajo, ya que un elevado número de fibras tipo IIB conlleva una disminución de la calidad de la carne y una mayor incidencia de carnes PSE debido a su metabolismo anaerobio y al hecho de presentar un menor número de redes capilares a su alrededor y contenido lipídico (Lefaucheur et al., 2002). El porcentaje de fibras tipo I llega a representar el 14,14% de la población total de fibras; resultados inferiores fueron encontrados en otros trabajos con razas autóctonas españolas, como en el Chato Murciano con un porcentaje de fibras en torno al 12,5% (Peinado et al., 2009); y en el Cerdo Ibérico con un valor de 12,09% (Serra et al., 1998). En lo que se refiere a las fibras tipo IIA, el porcentaje obtenido en el Cerdo Negro Canario es 10,51%, un porcentaje similar al estimado en el Chato Murciano con un valor del 10,60% (Peinado et al., 2009); y superior si lo comparamos al obtenido en el Cerdo Ibérico, que presenta un porcentaje de sólo el 4,01% (Serra et al., 1998). Si sumamos el total de fibras de naturaleza oxidativa (tipo I y tipo IIA) observamos que representan un 24,65% del total de fibras, un valor superior a los observados en el Chato Murciano con un 23,10% y en el cerdo Ibérico con un 16,11%. Estos resultados vienen a demostrar, desde el punto de vista de la calidad de la carne, el Cerdo Negro Canario es una raza con gran capacidad para almacenar grasa, lo cual a su vez, puede influir en la jugosidad y el color rojizo de su carne, tal como postulan otros trabajos (Cameron, 1993).

En lo que respecta al área medida en los distintos tipos de fibras presentes, en el músculo longísimo lumbar del Cerdo Negro Canario se

cumple la relación IIB>I>IIA, al igual que en otros estudios con razas porcinas (Gil et al., 2008; Peinado et al., 2004, 2009). El área de las fibras tipo IIB tiene un valor de 3318,37 μ^2 en el presente estudio, siendo menor que el obtenido en la raza Chato Murciano (4487,7 μ^2) por Peinado et al. (2009). Las fibras tipo I presentan una media de 1873,98 μ^2 , datos notablemente superiores fueron encontrados en el Chato Murciano, donde el área fibrilar fue 2876,6 μ^2 (Peinado et al., 2009). Por último, el área de las fibras tipo IIA obtenida en el presente trabajo es de 1496,33 μ^2 , siendo un valor inferior que el establecido en el Chato Murciano, con un tamaño fibrilar de 2579,2 μ^2 (Peinado et al., 2009). Es esta una característica llamativa en nuestros resultados, ya que todos los tipos de fibras observados presentan un menor tamaño respecto a otras razas, en este caso comparándolo con el Chato Murciano. Una explicación posible pudiera ser la edad y peso al sacrificio de los animales (9 meses y unos 109 Kg) con lo cual las fibras aún no se han desarrollado completamente. Por otro lado, es deseable que las fibras glucolíticas tengan un menor tamaño, ya que son las que menos grasa acumulan, pero también es un dato no deseado que las fibras oxidativas tengan menor tamaño, porque estas tampoco tendrían gran capacidad para almacenar grasa, lo cual puede influir en la jugosidad de la carne.

Las fibras gigantes también han sido advertidas por otros autores (Handel y Stickland, 1987; Gil et al., 2008) en unos porcentajes similares a los nuestros, si bien sólo las hemos encontrado en un 25% de las muestras analizadas. La técnica de la mATPasa empleada nos permitió el reconocimiento de dichas fibras identificándolas como fibras tipo IIB. Por lo que con dichas estimaciones no deben influir en la aparición de carnes anómalas.

En conclusión, podemos observar que la composición fibrilar del músculo longísimo lumbar del Cerdo Negro Canario, procedente de explotaciones de la Isla de Gran Canaria, presenta un elevado porcentaje de fibras oxidativas respecto a otras razas autóctonas porcinas españolas, lo cual favorece el acúmulo de grasa intrafibrilar, influyendo a su vez en la jugosidad y en el color de la carne. No obstante, su menor tamaño hace que dicha capacidad para acumular grasa pueda ser menor,

lo que habrá que ser tenido en cuenta. Futuros estudios que abarquen diferentes aspectos de la calidad de la carne en muestras tomadas a nivel de todo el Archipiélago Canario, podrán corroborar los resultados presentados, perfilando al Cerdo Negro Canario como una raza con amplias posibilidades en el mercado.

Agradecimientos

Queremos agradecer a la Asociación del Cerdo Negro Canario, y en particular a D. Rafael Riera Cillanueva la colaboración prestada, ya que sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de este trabajo. Así como a la Gerencia y Veterinarios del Matadero Insular de Gran Canaria

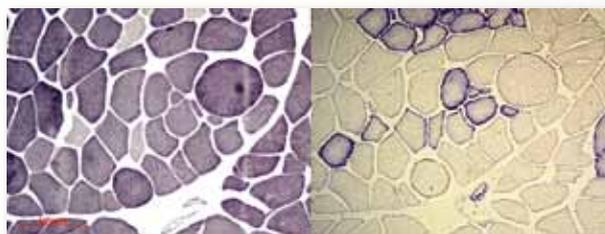


Figura 4. Secciones transversales seriadas teñidas con las técnicas mATPasa a pH 4,6 (izquierda) y NADH-TR (derecha). Las fibras tipo I y IIA presentan una elevada capacidad oxidativa, en contraste con la mayoría de fibras IIB. En algunas de estas últimas fibras se observa una moderada actividad oxidativa (*).

por las facilidades prestadas para la toma de muestras.

Bibliografía

- Brooke M, Kaiser K. Muscle fiber types: how many and what kind. *Archives of Neurology* 1970; 23: 369-379.
- Cameron ND. Selection for meat quality: objectives and criteria. *Pig News Inform* 1993; 14: 161-163.
- Chang KC, Da Costa N, Blackley R, Southwood O, Evans G, Plastow G, Wood JD, Richardson RI. Relationships of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs. *Meat Science* 2003; 64: 93-103.
- Dubowitz V, Sewry CA, Fitzsimons RB. *Muscle Biopsy: A practical approach*. 2ª ed. Baillière Tindall. W.B Saunders: Londres; 1985: 720.
- Eggert JM, Depreux FFS, Schinckel AP, Grant AL, Gerrard DE. Myosin heavy chain isoforms account for variation in pork quality. *Meat Science* 2002; 61:117-126.
- Essén-Gustavsson B, Lindholm A. Fiber types and metabolic characteristics in muscle of wild boars, normal and halothane sensitive Swedish Landrace pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 1984; 78: 67-71.
- Essén-Gustavsson B, Fjellkner-Modig S. Skeletal muscle characteristics in different breeds of pigs in relation sensory properties of meat. *Meat Science* 1985; 13: 33.
- Fiedler I, Nurnberg K, Hardge T, Nurnberg G, Ender K. Phenotypic variations of muscle fibre and intramuscular fat traits in Longissimus muscle of F2 population DurocxBerlin miniature pig and relationships to meat quality. *Meat Science* 2003; 63:131-139.
- García M, Capote, JF. *El cerdo negro canario (descrito en la isla de La Palma)*. Ed. Cabildo Insular de La Palma. Santa Cruz de La Palma, 1982.
- Gil F, López O, Ramírez G, Latorre R, Martínez F, Vázquez JM. Estudio histoquímico del músculo cuádriceps del muslo (m. vasto medial) en cerdos Landrace e Ibérico. *Anaporc Científico* 2001; 1: 2-8.
- Gil F, Vicente V, Vázquez JM, Latorre R, López-Albors O, Ramírez-Zarzosa G, Ayala MD, Rivero MA. Características histoquímicas de las fibras musculares de cerdo: una posible herramienta para el estudio de la calidad de la carne. *Anaporc Científico* 2008; 46: 37-32.
- Handel SE, Stickland NC. The growth and differentiation of porcine skeletal muscle fibre types and the influence of birthweight. *Journal of Anatomy* 1987; 152: 107-119.
- Karlsson A. *Porcine muscle fibres. Biochemical and histochemical properties in relation to meat quality* 1993; PhD Thesis. University of Uppsala. Sweden, ISSN 1101-5411.
- Klont RE, Brocks L, Eikelenboom G. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science* 1998; 49: 219-229.
- Larzul C, Lefacheur L, Ecolan P, Gogué J, Talmant A, Sellier P, Le Roy P, Monin G. 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* 1997; 75: 3126-3137.
- Latorre R, Gil F, Vázquez JM, Moreno F, Mascarello F, Ramírez G. Skeletal muscle fibre types in the dog. *Journal of Anatomy* 1993; 329-337.
- Lefacheur L, Le Dividich J, Mourot J, Monin G, Ecolan P, Krauss D. Influence of environmental temperature on growth, muscle and adipose tissue metabolism, and meat quality in swine. *Journal of Animal Science* 1991; 69: 2844-2854.
- Maltin CA, Warkup CC, Matthews KR, Grant CM, Porter AD, Delday MI. Pig muscle fiber characteristics as a source of variation in eating quality. *Meat Science* 1997; 47: 237-248.
- Peinado B, Poto A, Gil F, López G. Characteristics of the carcass and meat of the Chato Murciano pig. *Livestock Production Science* 2004; 90: 285-292.
- Peinado B, Almela L, Duchí N, Poto A. Parámetros de calidad en la canal y en la carne de cerdo Chato Murciano. *Eurocarne* 2009; 173: 64-80.
- Ryu YC, Kim BC. The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig longissimus dorsi muscle. *Meat Science* 2005; 71:351-357.
- Serra X, Gil F, Pérez-Enciso M, Olivier MA, Vázquez JM, Gispert M, Díaz I, Moreno F, Latorre R, Noguera JL. A comparison of carcass, meat quality and histochemical characteristics of Iberian (Guadyerbas line) and Landrace pigs. *Livestock Production Science* 1998; 56: 215-223.
- Snow HM, Billeter R, Mascarello F, Carpena E, Rowleron A, Jenny E. No classical type IIB fibres in dog skeletal muscle. *Histochemistry and Cell Biology* 1982; 75: 53-65.
- Toniolo L, Patruno M, Maccatrozzo L, Pellegrino MA, Canepari M, Rossi R, D'antona G, Botinelli R, Reggiani C, Mascarello F. Fast fibres in large animal: fibre types, contractile properties and myosin expression in pig skeletal muscles. *The Journal of Experimental Biology* 2004; 207: 1875-1886.