

花身雞魚 (*Terapon jarbua*) 軀幹肌生長發育之研究

陳雪芬 朱錦忠
經國管理暨健康學院

摘要

為瞭解花身雞魚 (*Terapon jarbua*) 軀幹肌肉之生長發育機制與各種肌纖維在肌肉生長過程中的轉變，本實驗利用已建立之組織化學分類技術來研究不同發育階段：稚魚期、幼魚期、成魚期之花身雞魚軀幹肌中白肌、紅肌及粉紅肌之各種肌纖維的組成與分佈變化，同時對各發育階段中肌纖維之代謝型式及能量來源進行探討。

研究發現花身雞魚白肌之肌纖維是由原先即已存在之小 CSA (cross-sectional area) 的 type IIb fibers 以細胞增大 (hypertrophy) 的方式成長；紅肌則表現出是以細胞增殖 (hyperplasia) 的方式成長，大量 IIc fibers 的存在顯示紅肌具有很高的分化能力；粉紅肌細胞數目的增加，主要是靠紅肌中之肌纖維的移出，此移出現象在經過粉紅肌之後，轉變為 type IIb fibers 的細胞便加入白肌之中，因此在花身雞魚的成長發育過程中，粉紅肌可能扮演一個「過渡」或「中間者」的角色。

關鍵字：軀幹肌、纖維類型、細胞增大、細胞增殖

Growth and development of trunk muscle in the tigerperch, *Terapon jarbua*

Shueh-Fen Chen and Ching-Chung Chu
Ching Kuo Institute of Management and Health

Abstract

The present study investigated the contribution of fiber hypertrophy and hyperplasia to the growth of white, red and pink muscle in the tigerperch, *Terapon jarbua* during different development stages. Histochemical techniques were used to examine the muscle fiber type, metabolic properties and energy sources. In the white muscle fibers, growth was contributed from the increasing small CSA (cross-sectional area) type IIb fiber hypertrophy. The muscle growth is expressed as the muscle fibers hyperplasia. The amount of type IIc fibers within red muscle indicate the red muscle with highly development ability. Pink muscle is probably a growth stage of other muscle patterns, increases the number of pink muscle fibres due to the development transition from the red muscle fibers. Thus, the pink muscle may play an “intermediate” in the trunk muscle development of tigerperch.

Key words: trunk muscle, fiber type, hypertrophy, hyperplasia

一、前言

魚類是具有高度分化特性的生物，構成體軸之軀幹肌纖維其發育機制亦是相當的複雜^(1,2)。對大多數的魚種而言，軀幹肌佔了身體組織的最大比例，且軀幹肌的生長對維持整個魚體或其他組織的成長具有相當密切的關係^(3,4)，因此，研究軀幹肌肉之生長發育機制是相當重要的。一般認為魚類軀幹肌肉是藉由肌纖維的增大 (hypertrophy)⁽⁵⁾ 和增殖 (hyperplasia) 作用來達成魚體的成長⁽⁶⁾，但隨著各發育階段生長速率的不同，這兩種作用對魚體的成長分別具有不同的貢獻⁽⁷⁾。通常在仔魚期之後，肌肉才開始增殖生長，此種現象是不同於哺乳類及鳥類的，因為哺乳類及鳥類肌細胞數目的增殖作用通常在個體出生後或不久即停止，而進一步的肌肉生長則是有賴於原先已存在肌肉中之肌纖維的增大作用。對大多數的魚種而言，持續有新的肌纖維加入對魚體之正常成長是很重要的現象，而且這個現象會一直持續到成魚階段⁽⁸⁾，所以，魚類會隨著發育階段、生物週期和環境狀況的不同而表現出不同的生長機制^(2,9,10)。

從 Chen and Huang⁽¹¹⁾ 的研究結果得知，成魚階段花身雞魚的軀幹肌主要是由白肌、粉紅肌與紅肌所構成，且在不同的肌肉中所含的各種肌纖維類型與比例亦不相同，在白肌中主要是由 type IIb fibers 所構成，在紅肌中則是由 type IIc 和 I fibers 所構成，粉紅肌纖維則是由 type I、IIb 和 IIc fibers 三種肌纖維呈鑲嵌狀排列組合而成。過去的研究認為 type IIc fibers 在肌肉發育的過程中會分化為 type I、IIa 和 IIb fibers⁽¹²⁾，因此將 type IIc fibers 視為 “precursor cells”。在花身雞魚的紅肌及粉紅肌中均有大量的 type IIc fibers 出現，而白肌中則無，這種現象的發現值得我們再進一步探討花身雞魚軀幹肌肉生長的方向是：從紅肌分化為粉紅肌再分化為白肌，亦或如同其他研究所指出紅肌與白肌均是由粉紅肌分化而來^(13,14)？

為瞭解花身雞魚軀幹肌肉之生長發育機制與各種肌纖維在肌肉生長過程中的轉變，本實驗即是利用已建立之組織化學分類技術^(13,15) 來研究不同發育階段：稚魚期 (juvenile) → 幼魚期 (young) → 成魚期 (adult) 之花身雞魚軀幹肌中白肌、粉紅肌及紅肌之各種肌纖維的組成與分布變化，同時亦對各發育階段中肌纖維之代謝型式及能量來源進行探討。

二、材料與方法

花身雞魚 (*Terapon jarbua*) 依其尾叉長度分為稚魚期 (juvenile, >1 cm, ≤7 cm)、幼魚期 (young, >7 cm, ≤12 cm) 及成魚期 (adult, >12 cm) 等四個發育階段⁽¹⁶⁾。實驗魚均飼養在自然光照下中，馴養期間每日投餵人工飼料，水溫 25±1℃、海水鹽度 34±1‰，並加掛循環過濾器。實驗時先以過量之 MS 222 (tricaine methanesulphonate, 3-aminobenzoic acids ethyl ester, SIGMA Co. U.S.A.) 將花身雞魚麻醉致死後，分別測量其尾叉長及體重，再進行進一步的研究分析。

稚魚階段之花身雞魚是將整隻小魚以冷凍固定方式固定後，從魚體尾端向身體前方切取厚度 10 μm 之橫向連續冷凍切片；幼魚及成魚階段之花身雞魚將其殺死後取下腹鰭後方到尾部側線下面之軀幹肌，先將肌肉修整成 1cm × 2cm 大小之長條狀，再進行厚度 10 μm 冷凍連續切片取樣，將冷凍切片置於室溫下乾燥後，再進行一系列組織化學染色

(13,17)。本研究中所用之組織化學染色分法包括：H&E、Modified Gomori's trichome、ATPase、Periodic acid Schiff (PAS)、Oil red (ORO)、Succinic dehydrogenase (SDH)、NADH-TR 以及 Lactate dehydrogenase (LDH) 等。

不同發育階段軀幹肌（紅肌、粉紅肌及白肌分別測量）中之各種類型肌纖維之橫切面積 (CSA, μm^2) 大小，分別利用電腦影像分析系統 (image-analysis system, JAVA soft, USA) 進行測量，並以 *t*-test 對各發育階段中不同類型之肌纖維平均面積進行檢定（以確定是否達統計上之顯著差異， $p < 0.05$ ），以瞭解不同類型肌纖維之大小分布是否有差異。此外，分別將紅肌、粉紅肌及白肌中之各種類型肌纖維以橫切面積 (cross-section area, CSA) 為 Y 軸，各個發育階段為 X 軸，繪製肌纖維大小之頻率分布圖，以鑑別同型肌纖維在不同發育階段中之 CSA 是否有差異，並以 *t*-test 對不同發育階段之同類肌纖維之 CSA 進行檢定，以確定是否達統計上之顯著差異 ($p < 0.05$)。

三、結果

各發育階段軀幹肌之組成變化

Fig. 1A-D 為在不同發育階段時花身雞魚軀幹肌之 NADH-TR 染色結果，從這組切片中，可以清楚的看出取樣部位之軀幹肌肉中的肌肉組成在各發育階段之變化。

在稚魚期階段的前期 (Fig. 1A)，可以看見軀幹肌主要是由皮下紅肌（成倒三角形），粉紅肌（僅由 2-3 層細胞所構成，緊接於紅肌之下呈 V 字型，並延伸至脊椎骨邊緣）及白肌（佔魚體之最大部分）所構成；到了稚魚期階段的後期 (Fig. 1B)，可看見紅肌、粉紅肌及白肌的分布位置及形狀並無太大變化，僅每一種肌肉之面積及細胞數目的增加，而白肌中則出現了清楚的肌束膜 (perimysium) 構造，將白肌部分的肌纖維區分成一塊一塊分離的區間。

在幼魚期階段的前期 (Fig. 1C)，可發現紅肌、粉紅肌的分布位置及形狀已有變化，在皮下約略可見類似鑲嵌狀 (mosaic) 的粉紅肌出現，其下才緊接著呈近似 V 字型紅肌的分布，且此時期的紅肌中亦出現肌束膜構造，將紅肌部分的肌纖維分隔成一個一個區塊 (blocks)；到了幼魚期階段的後期 (Fig. 1D)，鑲嵌狀粉紅肌的構造更為明顯，且紅肌中的肌纖維被肌束膜分隔成一個一個獨立的區塊，而與分布在其下方之粉紅肌有明顯的區隔。

各發育階段肌纖維之形態變化

從 H&E 的染色結果 (Fig. 2A-D)，可看見在不同的發育階段時，肌纖維的形態與核質比 (nucleus/sarcoplasm) 呈現明顯的變化。在稚魚階段 (Fig. 2A) 肌纖維之核質比較幼魚階段 (Fig. 2C) 來得高，從 Fig. 2B 與 Fig. 2D 的比較可發現稚魚階段及幼魚階段其紅肌中肌纖維之核質比均比白肌之肌纖維高

白肌部分的肌纖維形態，在各發育階段上亦呈現明顯的變化，從成魚階段⁽¹¹⁾的研究可知，該時期白肌中的肌纖維均呈大小相似的均勻分布 (homogeneous)，但是在稚魚階段發現白肌部分的肌纖維卻出現大小不同的鑲嵌狀 (mosaic) 排列 (Fig. 3A)，而此情形到了幼魚階段已不明顯 (Fig. 3B)，在幼魚階段白肌中肌纖維的分布情形較類似於

成魚階段，但仍有少量之鑲嵌狀分布出現，且小面積之肌纖維數目已減少許多。

各發育階段肌纖維之分布變化

Fig. 4A-D 為稚魚階段之 mATPase 染色圖譜，從 Fig. 4A (mATPase 10.3) 和 Fig. 4B (mATPase 4.6) 之染色結果可知道在稚魚階段的前期，白肌部分幾乎是由 type IIb fibers 所構成，紅肌部分主要是由 type IIc fibers 所構成，粉紅肌部分則是由 type I fibers 和 IIc fibers 所構成；到了稚魚階段的後期 (Fig. 4C, mATPase 10.3, Fig. 4D, mATPase 4.6)，白肌部分幾乎是由 type IIb fibers 所構成，紅肌部分主要是由 type IIc fibers 及少量 type I fibers 所構成，粉紅肌則是由 type I fibers、IIc fibers 及少量的 IIb fibers 所構成。

Fig. 5A-D 為幼魚階段之 mATPase 染色圖譜，從 Fig. 5A (mATPase 10.3) 和 Fig. 5B (mATPase 4.6) 之染色結果可知道在幼魚階段的前期，白肌部分幾乎是由 type IIb fibers 所構成，紅肌部分主要是由 type IIc fibers 及 I fibers 所構成，此時可清楚看見皮下鑲嵌狀粉紅肌的出現，粉紅肌則是由 type I fibers、IIc fibers 及 IIb fibers 呈鑲嵌狀分布。稚魚階段的後期 (Fig. 5C, mATPase 10.3, Fig. 5D, mATPase 4.6)，三種肌肉中之肌纖維的類型及分布情形與前期相似，僅肌纖維面積與細胞數增加。

肌纖維大小與肌肉發育之關係

白肌在稚魚階段是由兩種不同橫切面積 (CSA) 之 type IIb fibers 以鑲嵌狀排列方式所組成 (大小 CSA type IIb fibers 之組成比例約各占一半, Fig. 3, Table 1)，而此種鑲嵌狀排列方式一直持續到幼魚階段，在幼魚階段小 CSA type IIb fibers 所占之組成比例則從稚魚階段的 50-60% 減少到 30%，而大 CSA type IIb fibers 所占之組成比例則從稚魚階段的 40-50% 增加到 70% (Table 1)，進入成魚階段後白肌則均由大 CSA 之 type IIb fibers 所構成。比較不同發育階段之大 CSA type IIb fibers 之面積大小 (稚魚： $2898.30 \pm 642.21 \mu\text{m}^2$ ，幼魚： $3044.09 \pm 632.13 \mu\text{m}^2$ ，成魚： $2969.30 \pm 1237.27 \mu\text{m}^2$) 顯示在統計上均無顯著差異 ($p \geq 0.05$) (Table 1)；小 CSA type IIb fibers 之面積從稚魚階段到幼魚階段則明顯增加 (稚魚： $800.11 \pm 206.49 \mu\text{m}^2$ ，幼魚： $1042.12 \pm 281.49 \mu\text{m}^2$ ， $p < 0.05$)，但仍小於大 CSA type IIb fibers 之面積，到成魚階段則不見小 CSA type IIb fibers 之存在 (Table 1)。

從 mATPase (Fig. 4, 5) 染色結果知道紅肌是由 type IIc fibers 與 type I fibers 所構成，粉紅肌則是由 type IIb fibers、type IIc fibers 與 type I fibers 三種肌纖維所構成。

紅肌中的 type IIc fibers 從稚魚階段的初期即出現，並且是各發育階段中紅肌之主要組成肌纖維，其所占之組成比例均在 80-90% 以上 (Table 1)；進一步比較各發育階段紅肌中 type IIc fibers 之 CSA (稚魚： $297.66 \pm 59.38 \mu\text{m}^2$ ，幼魚： $320.43 \pm 79.24 \mu\text{m}^2$ ，成魚： $318.77 \pm 105.02 \mu\text{m}^2$) 則無顯著差異 ($p \geq 0.05$)。而紅肌中之 type I fibers 直到稚魚階段的後期才出現，此後便一直存在於各發育階段之紅肌中，但所占之比例均小於 10%，比較各發育階段紅肌中 type I fibers 之 CSA (稚魚： $739.52 \pm 143.24 \mu\text{m}^2$ ，幼

魚：726.39±125.81 μm^2 ，成魚：708.65±142.62 μm^2) 亦無顯著差異 ($p \geq 0.05$)。

粉紅肌中之 type IIb fibers 是從稚魚階段的後期才開始出現，並一直存在於各發育階段之粉紅肌中，其所占之比例均小於10%，比較各發育階段粉紅肌中 type IIb fibers 之 CSA (稚魚：2832.98±879.80 μm^2 ，幼魚：3021.15±984.11 μm^2 ，成魚：3045.66±1088.87 μm^2) 則無顯著差異 ($p \geq 0.05$)。另外 type I fibers 和 IIc fibers 則在各發育階段之粉紅肌中均出現，且分別占粉紅肌組成之 30-40% 及 50-60% (Table 1)。各發育階段粉紅肌中 type I fibers 之 CSA 分別為 1058.48±185.60 μm^2 (稚魚)、1026.51±183.77 μm^2 (幼魚) 及 1192.09±308.28 μm^2 (成魚) 經統計分析無顯著差異 ($p \geq 0.05$)，Type IIc fibers 在各發育階段之 CSA 分別為 315.31±77.68 μm^2 (稚魚)、331.04±89.94 μm^2 (幼魚) 及 353.20±122.18 μm^2 (成魚) 經統計分析亦無顯著差異 ($p \geq 0.05$)。

各發育階段肌纖維之代謝作用

從 Table 2 所列白肌、紅肌及粉紅肌在各發育階段之三種代謝酵素 (SDH、NADH-TR 及 LDH) 活性的染色結果，可進一步瞭解在各發育階段肌纖維之代謝作用的變化。實驗結果顯示 SDH 與 NADH-TR 在稚魚階段之肌纖維中具有較高之酵素活性，隨著魚體的發育生長此兩種酵素活性逐漸降低，但仍是肌肉中提供能量的主要代謝作用 (Table 2)；LDH 在三種肌肉中的酵素活性，於各發育階段中並無明顯變化，且整體而言其酵素活性均小於 SDH 與 NADH-TR (Table 2)。

各發育階段肌纖維之能量來源

由 PAS 及 oil red O 的染色，可以瞭解在各發育階段時軀幹肌之能量儲存的形式及肌纖維收縮時之能量供應來源。根據 PAS 染色結果得知白肌、紅肌及粉紅肌在各發育階段中均以肝醣 (glycogen) 為主要之儲存的能量型式 (Table 3)，並以稚魚階段之肝醣含量最高，且隨著魚體的發育生長肌肉中肝醣的含量略為漸少。另外從 oil red O 的染色結果可知在白肌中並無脂質的存在 (Table 3)，紅肌與粉紅肌中脂質的含量在各發育階段均相當低，且主要存在於 type IIc fibers 中，故並非軀幹肌之主要能量來源。

四、討論

過去的研究指出硬骨魚類肌纖維的增大和增殖作用對肌肉生長之影響會隨魚種的不同而不同，隨著發育年齡、生物週期和環境狀況的變化而表現出不同的生長機制^(2,9,10)。一般進入仔稚魚期之後，魚體開始自由游泳並且攝食，同時在此階段可看見紅肌和粉紅肌纖維的出現⁽¹⁷⁾，此外在一些生長較快速的魚種中，亦可發現新的細胞增殖作用在白肌區域中進行⁽¹⁸⁾。許多魚類在仔稚魚後期肌纖維的增殖作用僅發生在白肌，此時白肌中會出現 'mosaic' 的排列方式^(6,7)，在養殖的魚種亦發現白肌中出現 'mosaic' 特徵⁽²⁾。本研究之花身雞魚在稚魚階段中白肌出現了由橫切面積 (CSA) 大小不同的兩種 type IIb fibers 所構成的 'mosaic' 排列情形，隨著魚體的成長此現象逐漸消失，到了成魚階段白肌則全由大 CSA type IIb fibers 以 homogeneous 的型式排列，此現象顯示花身雞魚之白肌的生長發育，可能是由已存在之小 CSA 的 type IIb fibers 逐漸增

大為大 CSA 的 type IIb fibers 而來，而這些小 CSA 的 type IIb fibers 可能在稚魚期之前即由已存在之大 CSA 的 type IIb fibers 分裂所產生。魚類第二階段的細胞增殖作用一般會持續到成魚期，直徑大小不同的肌纖維會形成鑲嵌狀的排列，在哺乳類肌肉發育的過程當中可看見肌纖維會出現類似 “rosette” 的排列方式，而這種現象在魚類則沒有發現⁽¹⁹⁾。在一些成長速率較慢的魚種如：*Poecilia reticulata* 和 *Pimephalus notatus* 則未發現有新增肌纖維現象的出現，通常這些魚類在仔魚期之後的魚體成長則主要是靠肌纖維的增大作用^(3, 20)。

從鯉魚 (cyprinids) 的研究觀察中發現，成魚之紅肌纖維是由體表紅肌層發育而來，但是以免疫組織化學和電子顯微鏡技術對 zebrafish、sea bass、guppies 及 catfish 等魚種的研究卻發現成魚之紅肌纖維是從另一群獨立的肌原細胞分化而來^(10, 20)。在本研究中發現，花身雞魚在稚魚階段時紅肌是緊接在皮下的位置，主要是由 type IIc fibers 所構成，但是隨著魚體的成長紅肌則由皮下的位置逐漸向身體內部移動，且形狀由稚魚期的倒三角型而轉變為成魚階段之 V 字型，肌纖維的數目也逐漸增加，同時出現肌束膜的構造將肌纖維分隔成一個一個小區塊。Type I fibers 也在稚魚階段的後期在紅肌出現，不過在各發育階段中組成紅肌的肌纖維比例仍以 type IIc fibers 為主，type I fibers 僅是以極少的比例散布於紅肌中。

在花身雞魚稚魚階段的初期，僅在紅肌與白肌的中間發現由二至三層肌纖維所構成的粉紅肌，此時的粉紅肌則是由 type I fibers 和 IIc fibers 所組成。隨著魚體的成長，皮下鑲嵌狀粉紅肌逐漸出現，使原先僅貼於皮下的紅肌向身體內側推移，而原先位於紅肌與白肌之間的粉紅肌面積則同時增大，組成粉紅肌之肌纖維更出現較複雜的組合狀態。到了幼魚期粉紅肌中已包含了 type I fibers、IIb fibers 及 IIc fibers 三種肌纖維。Zebrafish 在仔魚階段所出現的粉紅肌纖維，被認為是由早期出現之白肌纖維受到神經控制的影響而轉變成為粉紅肌纖維^(12, 22)，而在對 sea bass 之研究，則認為粉紅肌纖維是由肌原細胞直接分化而來⁽¹⁰⁾。一般認為粉紅肌肉層是由一種以上不同類型之肌纖維所構成，在本研究中亦有相同的發現，但是隨著魚種的不同其肌纖維的組成不相同^(14, 23)。

通常魚類在達到其極限體型之 44% 左右時，肌細胞增殖作用便會停止，而進一步的肌肉生長則有賴於已存在魚體中之肌纖維的增大作用^(8, 24)。細胞增殖作用的存在與否和細胞的最大直徑有密切關係，因為在魚類每一個肌纖維的大小會受限於氧氣擴散作用和新陳代謝作用所能供應之最大距離⁽²⁴⁾。Weatherley⁽²⁴⁾ 發現在稚魚和成魚階段肌纖維的直徑大小並不會受到體長大小的影響，而成長速率的差異主要是受到食物、營養、溫度以及實驗狀態（如注射生長荷爾蒙）等環境因子的影響。本研究發現，花身雞魚除白肌部分在稚魚及幼魚階段之小 CSA 的 type IIb fibers 有面積增大之外，其餘同類型肌纖維之大小並未隨著魚體的成長而有明顯增加。在過去，對本魚種之養殖即因為在幼魚階段後期（10cm F.L.）以後的成長速率不佳而無法大量養殖，由本研究之結果或可提供該魚種在肌肉生長機制上之解釋。

在比較 Carpené and Veggetti⁽⁶⁾、Weatherley and Gill⁽⁷⁾ 和 Weatherley et al.⁽⁸⁾ 的研究，可發現細胞增殖作用對於魚類而言是相當重要的，它可使魚體產生很明顯及快

速地的增加。在 Talesara 和 Urfi⁽²⁵⁾ 對鯉魚 (*Cyprinus carpio* Var. *communis*) 的研究發現，鯉魚的成長是屬於肌肉面積的增加，而增加的因素是由於肌纖維直徑的增加和紅肌纖維數目的增加（可能還包括粉紅和白肌纖維）。在肌纖維開始生長的過程，每一個細胞核周圍之細胞質的量亦隨之增加，但是當關鍵性的核質 (nucleus/sarcoplasm) 比值達到固定的比例時，只有靠額外的 myonuclei 再加入，肌纖維才有可能再進一步生長⁽²⁶⁾。在本研究發現花身雞魚軀幹肌在稚魚階段具有很高之核質比，但隨著魚體的成長其核質比逐漸降低，到了成魚階段之核質比最低，且在整個發育過程中紅肌之核質比均高於白肌及粉紅肌，由此可知花身雞魚在稚魚階段與紅肌中之肌纖維具有較高之增殖能力。

根據 SDH、NADH-TR 及 LDH 三種代謝酵素在各發育階段之白肌、紅肌及粉紅肌之活性變化，可知各發育階段花身雞魚軀幹肌收縮時，仍以氧化代謝作用和電子傳遞鏈提供大量的 ATP 做為能量的直接供應，而無氧代謝的能力，為魚體在應付緊急狀態時之能量供應之一。Barany⁽²⁷⁾ 指出不同類型的肌肉其球蛋白之 mATPase 活性與收縮的速率有關，Talesara 和 Urfi⁽²⁵⁾ 亦指出在肌肉生長過程中，增加 mATPase 活性可以增加收縮速度，另一項更大的差異是 SDH 活性的增加，在幼生和胚胎時期 SDH 活性相當低，但在後來的各期則增加非常多，此顯示肌節肌肉中的氧有增加之可能性。花身雞魚在稚魚階段，其軀幹肌中 SDH 與 NADH-TR 之含量均較成魚階段高，此乃因本魚種在仔稚魚時期之生態行為是經常洄游於河口淺灣間覓食，為應付此多變的生態環境，故其肌肉中具有較多之氧化酵素。到了成魚階段，本魚種則多群棲於水深 20-30 公尺之沙泥處，故此時期軀幹肌之氧化酵素含量略為降低，但仍為主要之能量代謝來源。由此可知，隨著不同發育階段之生態環境的變化，軀幹肌中所具有與能量代謝相關之酵素含量亦隨之改變。另外由 PAS 及 oil red O 的染色可以知道肝醣為軀幹肌之主要儲存的能量型式，而脂質在各種肌纖維中的含量均相當低，因此並非軀幹肌之主要能量來源。

綜合本研究的結果，可以瞭解到花身雞魚之軀幹肌的成長是一個相當複雜的過程，在不同的發育階段與不同的肌肉中均有差異。花身雞魚白肌從稚魚期經幼魚期到成魚的整個發育過程中，其肌纖維是由原先即已存在之小 CSA 的 type IIb fibers 以細胞增大 (hypertrophy) 的方式成長，故在這個時期魚體的成長較快速。到了成魚階段大多數的 type IIb fibers 均已達到其極限體積，故在到達成魚期之後魚體的成長即較為緩慢，而此時魚體的成長則有賴粉紅肌中之 type IIb fibers 的加入，但此加入的速度則會受到外在環境如食物的供應、魚體的活動性等因素的影響。花身雞魚紅肌的發育在整個研究過程中，均表現出是以細胞增殖 (hyperplasia) 的方式在成長，大量 IIc fibers 的存在顯示紅肌具有很高的分化能力，稚魚階段後期 I fibers 的出現，顯示 IIc fibers 在成長的過程當中會逐漸轉變為 I fibers。由於受到氧氣傳輸及紅肌的慢速持久性收縮作用，隨著魚體的成長，紅肌中會出現以肌束膜區隔成的一個一個小單位，此與哺乳動物的肌肉組成相似。粉紅肌在花身雞魚的整個發育過程中變化是相當大的，從稚魚階段前期位在紅肌與白肌之間的兩三層細胞，到後來組成較複雜的鑲嵌狀排列型式，其肌纖維也由前期的 type I fibers 和 IIc fiber，到後來 type IIb fibers 的出現，均顯示出粉紅肌在花身雞魚的成長發育過程中，扮演一個「過渡」或「中間者」的角色。其

細胞數目的增加，主要是靠紅肌中之肌纖維的移出，此移出現象在經過粉紅肌之後，轉變為 type IIb fibers 的細胞便加入白肌之中，這也是粉紅肌和白肌之間並無明顯的區隔，而僅以混合的方式相連接的原因。

參考文獻

1. Willemse, J. J. and C. Lieuwma-Noordanus (1984). The generation of new "white" muscle fibers by budding in the lateral musculature of elvers, *Anguilla anguilla* (L.) during normal development. *Experientia*, 40: 990-992.
2. Romanello, M. G., P. A. Scapolo, S. Luprano and F. Mascarello (1987). Post-larval growth in the lateral white muscle of the eel *Anguilla anguilla*. *J. Fish Biol.*, 30: 161-172.
3. Weatherley, A. H. and H. S. Gill, (1983). Relative growth of tissue at different somatic growth rates in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 22: 43-60.
4. Weatherley, A. H. and H. S. Gill, (1987). *The Biology of Fish Growth*. Academic Press, New York, NY. 443 pp.
5. Davison, E. (1983). The lateral musculature of the common bully, *Gobiomorphus cotidianus*, a freshwater fish from New Zealand. *J. Fish Biol.*, 23: 143-151.
6. Carepné, E. and A. Veggetti (1981). Increase in muscle fibres in the lateral is muscle (white portion) of Mugilidae (Pisces, Teleostei). *Experientia*, 37: 191-193.
7. Weatherley, A. H. and H. S. Gill, (1984). Growth dynamics of white myotomal muscle fibres in the bluntnose minnow, *Pimephales notatus* Rafinesque, and comparison with rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 25: 13-24.
8. Weatherley, A. H., H. S. Gill and A. F. Lobo (1988). Recruitment and maximal diameter of axial muscle fibres in teleosts and their relationship to somatic growth and ultimate size. *J. Fish Biol.*, 33: 851-859.
9. Scapolo, P. A., A. Veggetti, F. Mascarello, and M. G. Romanello (1988). Developmental transitions of myosin isoforms and organization of the lateral muscle in the teleost *Dicentrarchus labrax* (L). *Anat. Embryol.*, 178: 287-295.
10. Veggetti, A., F. Mascarello, P. A. Scapolo and A. Rowleron (1990). Hyperplastic and hypertrophy growth of lateral muscle in *Dicentrarchus labrax* (L.). *Anat. Embryol.*, 182: 1-10.
11. Chen, S. F. and B. Q. Huang (2000). Cytochemical profiles and quantitative analysis of fiber types in trunk muscle fibers in tigerperch, *Terapon jarbua*. *Zool. Stud.*, 39(1): 28-37.
12. Dubowitz, V. (1985). *Muscle Biopsy: a practical approach*, 2nd edn P.41-81. Baillière Tindall.
13. Carepné, E., A. Veggetti and F. Mascarello (1982). Histochemical fibre types in the lateral muscle of fishes from fresh, brackish and salt water. *J. Fish Biol.*, 20: 379-396.
14. Mascarello, F., M. G. Romanello and P. A. Scapolo (1986). Histochemical and immunohistochemical profile of pink muscle fibres in some teleosts. *Histochemistry*, 84: 251-255.
15. Chen, S. F., Huang, B. Q. and Y. Y. Chien (1998). Histochemical characteristics of sonic muscle fibers in tigerperch, *Terapon jarbua*. *Zool. Stud.*, 37: 56-62.
16. Miu, T. S., S. C. Lee and W. N. Tzeng (1990). Reproductive Biology of *Terapon jarbua* from the Estuary of Tamshui River. *J. Fish. Soc. Taiwan*, 17(1): 9-20.
17. Matsuoka, M. (1984). Morphometry of the myotomal muscle fibers in larvae and juveniles of the red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50: 1811-1816.
18. Johnston I. A. (1993). Temperature influences muscle differentiation and the relative timing of organogenesis in herring (*Clupea harengus*) larvae. *Mar. Biol.*, 116: 363-379.
19. Koumans, J. T. M. and H. A. Akster (1995). Myogenic cells in development and growth of fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 110(1): 3-20.
20. Veggetti, A., F. Mascarello, P. A. Scapolo, A. Rowleron and M. D. Candia Carnevali (1993). Muscle growth and myosin isoform transitions during development of a small teleost fish *Poecilia reticulata* (Peters) (Atheriniformes Poeciliidae); a histochemical, immune histochemical, ultrastructural and morphometric study. *Anat. Embryol.*, 187: 353-361.
21. De Graaf F., W. van Raamsdonk, E. van Asselt and P. C. Diegenbach (1991). Histochemical profiles of motoneuronal innervating muscle fibers with different activity patterns in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Histochem. J.*, 23: 273-280.
22. Felsenfeld, A. L., M. Curry, and C. B. Kimmel (1991). The fub-1 mutation blocks initial myofibril formation in zebrafish muscle pioneer cells. *Devel. Biol.*, 153: 217-226.
23. Brooke, S. and I. A. Johnston (1993). Influence of development and rearing temperature on the distribution, ultrastructure and myosin sub-unit composition of myotomal muscle-fibre types in the plaice *Pleuronectes platessa*. *Mar. Biol.*, 117: 501-513.

花身雞魚 (Terapon jarbua) 軀幹肌生長發育之研究：陳雪芬、朱錦忠，經國學報，22：64-81

24. Weatherley, A. H. (1990). Approaches to understanding fish growth. Trans. J. Anat., 125: 457-494.
25. Talesara, C. L. and A. J. Urfi (1987). A histophysiological study of muscle differentiation and growth in the common carp *Cyprinus carpio* Var. *communis*. J. Fish Biol., 31: 45-54.
26. Winchester, P. K. and W. J. Gonyea (1992). A quantitative study of study of satellite cells and myonuclei in stretched avian slow tonic muscle. Anat. Rec., 232: 369-377.
27. Barany, M. (1976). ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. J. General. Physio., 50: 197-219.

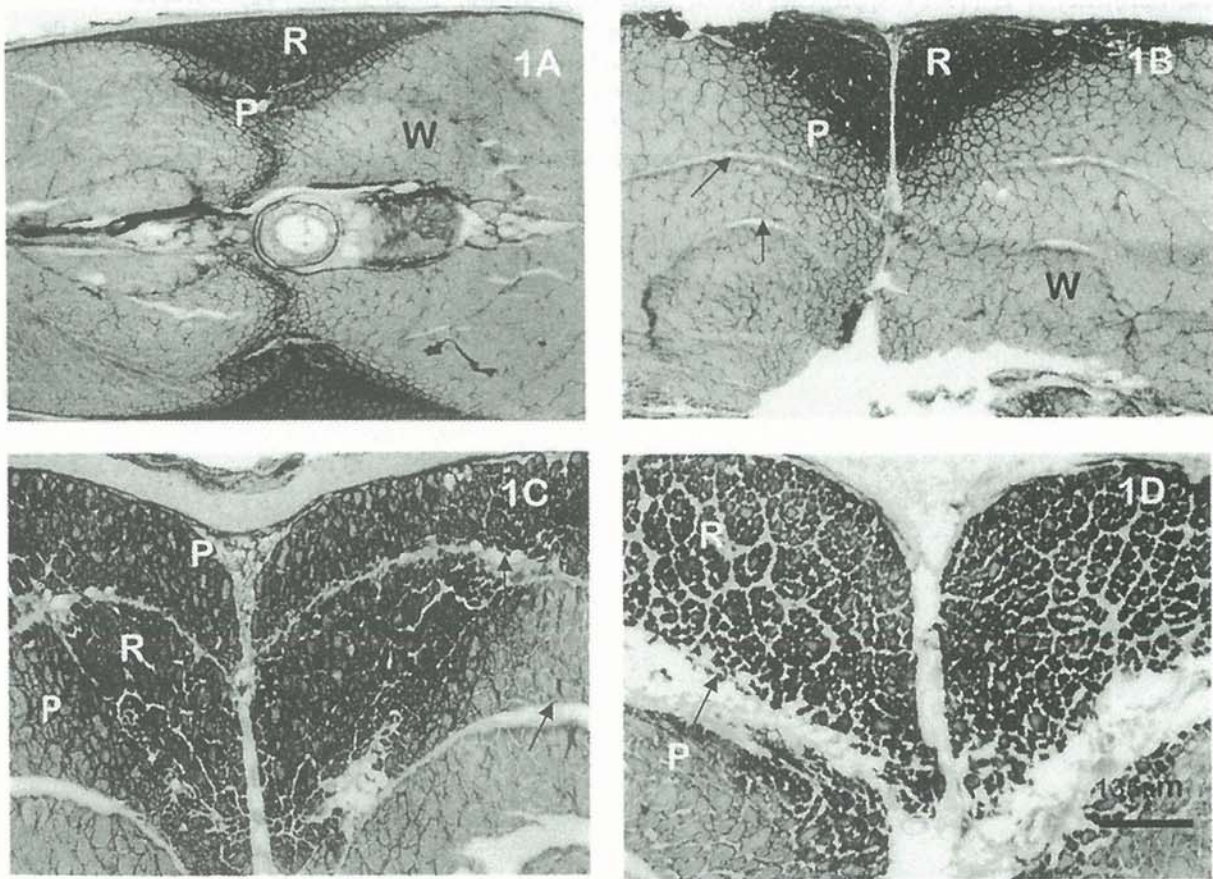


圖 1A-D 在不同發育階段花身雞魚軀幹肌之 NADH-TR 染色結果

Fig. 1A-D Cross sections of trunk muscle in different development stages from *Terapon jarbua* stained by NADH-TR. Cross sectional areas show three pattern muscles, i.e. Red (R), Pink (P), and White (W) muscle in trunk muscle. Fig. 1A is early juvenile stage (2.35cm F.L.). Fig. 1B is post juvenile stage (5.38cm F.L.). Fig. 1C is early young stage (7.57cm F.L.). Fig. 1D is post young stage (10.61cm F. L.). The perimysium disappears after post-juvenile stage (Fig. 1B-D, black arrow).

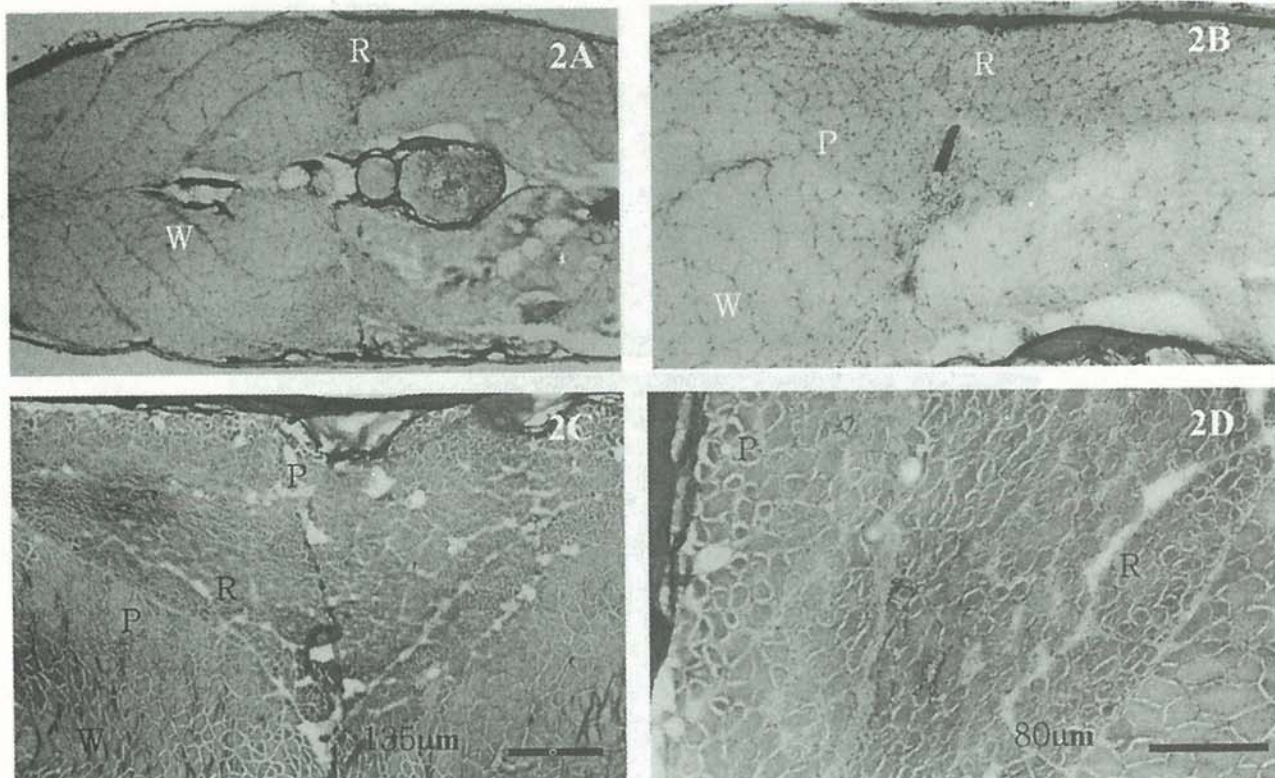


圖 2A-D 在不同發育階段花身雞魚軀幹肌之 H&E 染色結果

Fig. 2A-D Cross sections of trunk muscle in different development stages from *Terapon jarbua* stain by H&E. Cross sectional areas show three pattern muscles, i.e. Red (R), Pink (P), and White (W) muscle in trunk. Fig. 2A and Fig. 2B are juvenile stage there are abundant nuclei (blue point) with higher nucleus/sarcoplasm. Fig. 2C and Fig. 2D are young stage with lower nucleus/sarcoplasm. Fig 2A and 2C, Fig. 2B and 2D are the same magnification.

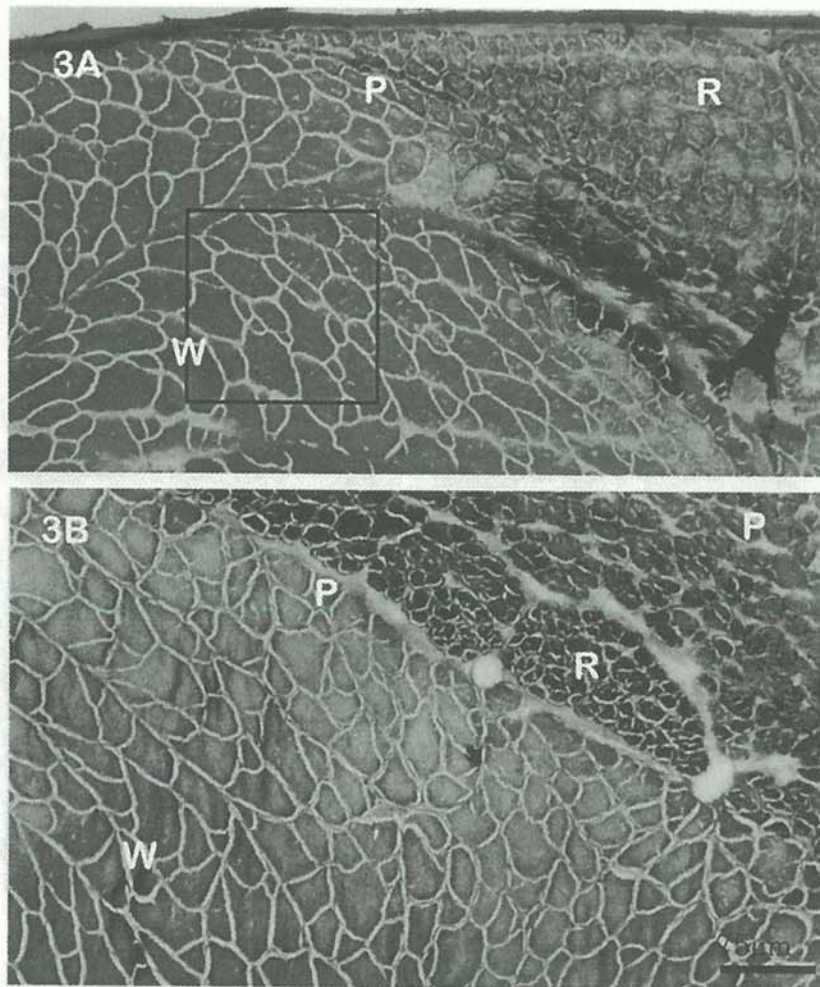


圖 3A-B 在不同發育階段花身雞魚軀幹肌之 MGT 染色結果

Fig. 3A-B Cross sections of trunk muscle in different development stages from *Terapon jarbua* stain by MGT. Cross sectional areas show three pattern muscles, i.e. Red (R), Pink (P), and White (W) muscle in trunk. There is "mosaic white muscle" (square space, Fig. 3A) in juvenile stage. The "mosaic white muscle" gradually disappear during young stage (Fig. 3B) to adult.

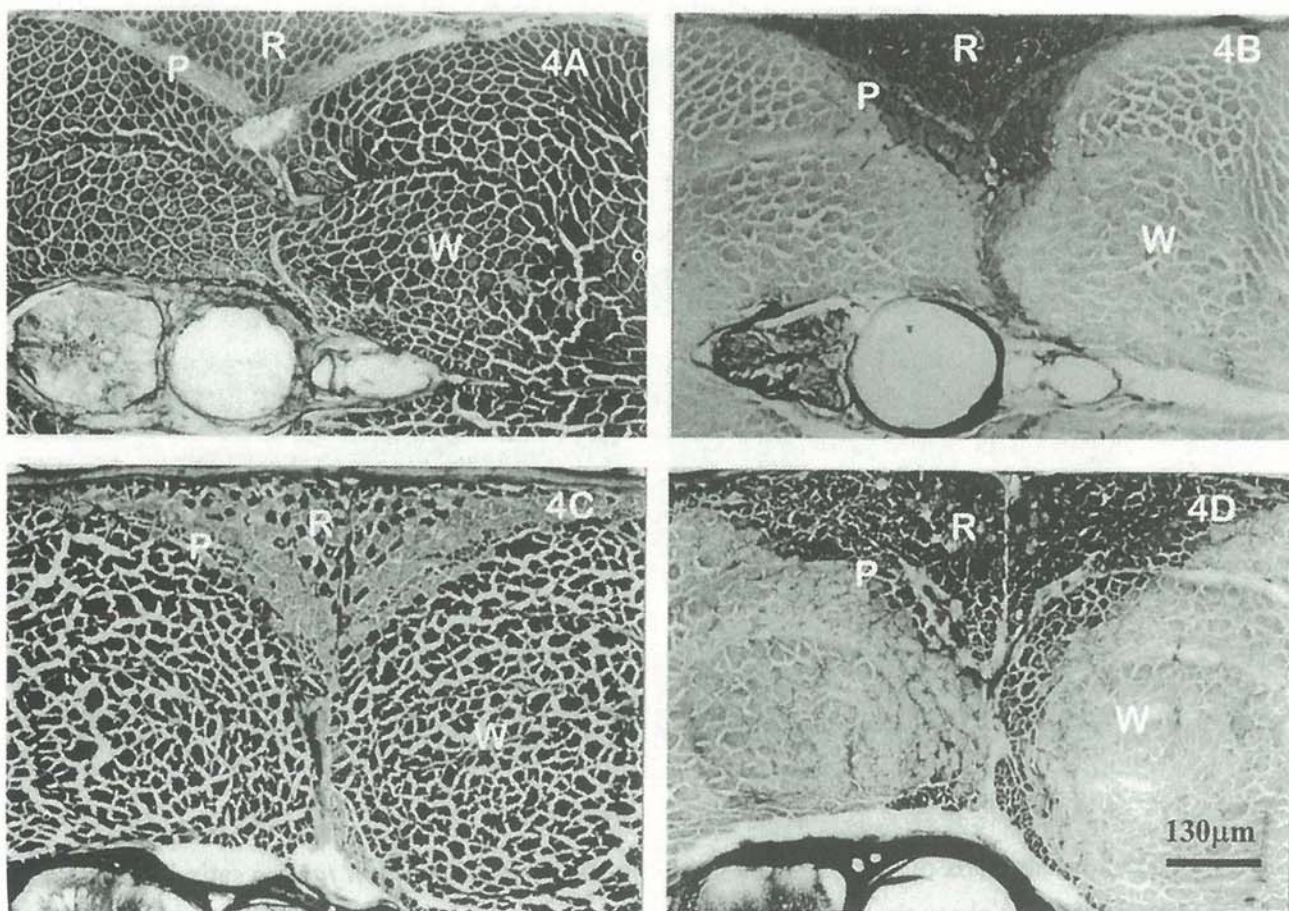


圖 4A-D 稚魚階段花身雞魚軀幹肌之 mATPase 染色結果

Fig. 4A-D Cross sections of trunk muscle in juvenile stages from *Terapon jarbua* stain by mATPase. Cross sectional areas show three pattern muscles. i.e. Red (R), Pink (P), and White (W) muscle in trunk muscle. Fig. 4A and Fig. 4B are early juvenile stage (2.55cm F.L.) stained with mATPase 10.3 and 4.6, respectively. Fig. 4C and Fig. 4D are post juvenile stage (5.75cm F.L.) stained with mATPase 10.3 and 4.6, respectively.

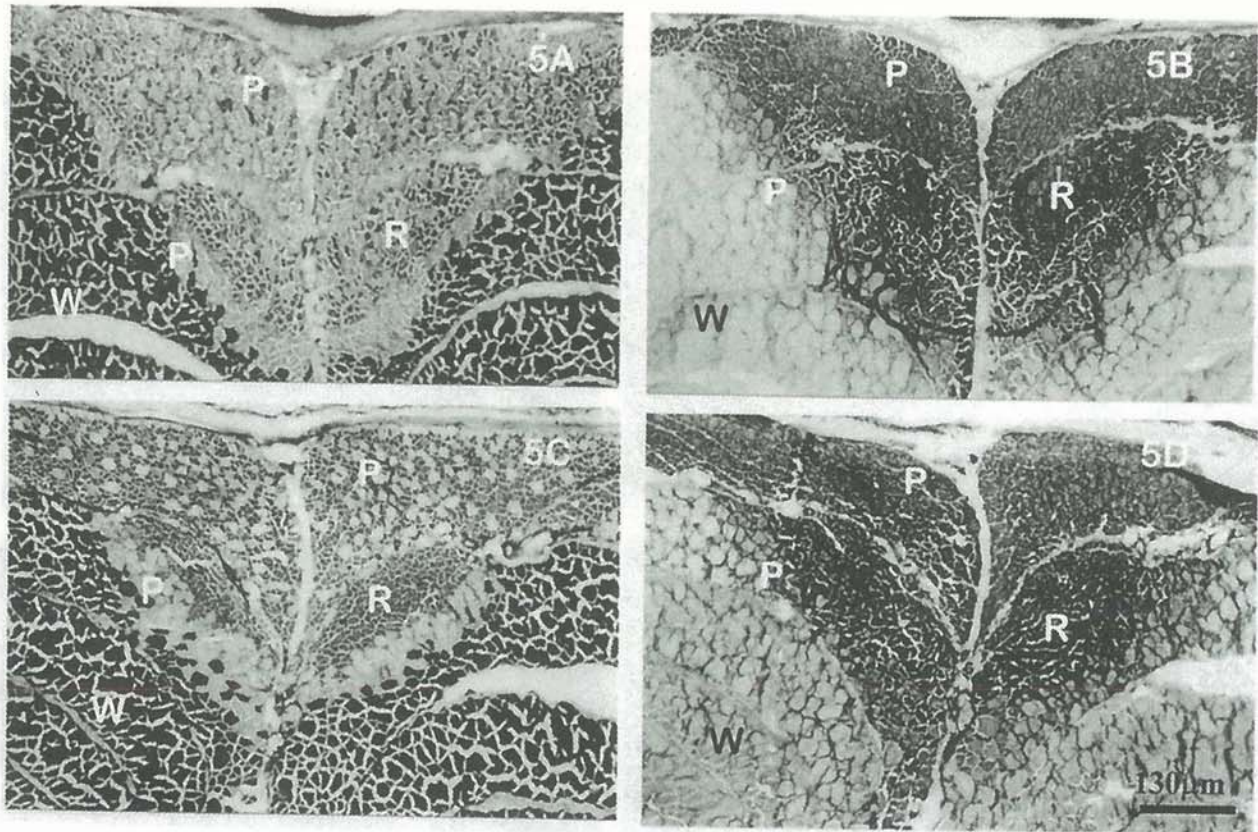


圖 5A-D 幼魚階段花身雞魚軀幹肌之 mATPase 染色結果

Fig. 5A-D Cross sections of trunk muscle in young stages from *Terapon jarbua* stained by mATPase. Cross sectional areas show three pattern muscles. i.e. Red (R), Pink (P), and White (W) muscle in trunk muscle. Fig. 5A and Fig. 5B are early young stage (7.57cm F.L.) stained with mATPase 10.3 and 4.6, respectively. Fig. 5C and Fig. 5D are post young stage (10.2cm F.L.) stained with mATPase 10.3 and 4.6, respectively.

表一 花身雞魚在不同發育階段中白肌、紅肌與粉紅肌纖維之型態特徵比較

Table 1. Summary the morphometric characteristics of the fiber types in white, red, and pink muscles of tigerperch, *Terapon jarbua* from juvenile to adult development stage.

Juvenile			Young			Adult		
Type	Composition ^a	CSA(μm^2) ^b	Type	Composition ^a	CSA(μm^2) ^b	Type	Composition ^a	CSA(μm^2) ^b
White	IIb 40 - 50%	2989.30 $\pm$ 642.21 ^{###} (n = 112)	IIb	>70%	3044.09 $\pm$ 632.13 ^{###} (n = 110)	IIb	>99%	2969.30 $\pm$ 1237.27 ^{###} (n = 215)
	IIb 50 - 60 %	800.11 $\pm$ 206.49 [#] (n = 80)	IIb	<30%	1042.12 $\pm$ 281.41 ^{###} (n = 67)	—	—	—
	IIc >80%	297.66 $\pm$ 59.38 [#] (n = 109)	IIc	>90%	320.43 $\pm$ 79.24 [#] (n = 136)	IIc	>90%	318.77 $\pm$ 105.02 [#] (n = 183)
Red	I <20%	739.52 $\pm$ 143.24.62 ^{##} (n = 24)	I	<10%	726.39 $\pm$ 125.81.62 ^{##} (n = 30)	I	<10%	708.65 $\pm$ 142.62 ^{##} (n = 18)
	IIb* <10%	2832.98 $\pm$ 879.70 ^{###} (n = 42)	IIb	<10%	3021.15 $\pm$ 984.11 ^{###} (n = 52)	IIb	<10%	3045.66 $\pm$ 1088.87 ^{###} (n = 36)
	IIc 50 - 60%	315.31 $\pm$ 77.68 [#] (n = 91)	IIc	50 - 60%	331.04 $\pm$ 89.94 [#] (n = 100)	IIc	50 - 60%	353.20 $\pm$ 122.18 [#] (n = 196)
Pink	I 30 - 40%	1058.48 $\pm$ 185.60 ^{###} (n = 85)	I	30 - 40%	1026.51 $\pm$ 183.77 ^{###} (n = 78)	I	30 - 40%	1192.09 $\pm$ 308.28 ^{###} (n = 158)

a. Composition: constituent percentages of the fiber types in one muscle pattern (e.g. white, red or pink muscle).

b. CSA: mean and standard deviation of cross-sectional areas of each fiber type.

“#” symbols indicate statistical difference at p<0.05.

n: numbers of randomly measured fibers of each fiber types for CSA.

※: this IIb fibers show after 5cm fork length

表二 花身雞魚在不同發育階段中白肌、紅肌與粉紅肌纖維之代謝特性比較

Table 2. Summary the metabolism characteristics of the fiber types in white, red, and pink muscles of tigerperch, *Terapon jarbua* from juvenile to adult development stage.

<u>SDH</u>			<u>NADH-TR</u>			<u>LDH</u>		
Type	Juvenile	Young	Adult	Type	Juvenile	Young	Adult	Type
White	IIb	++	+	+	IIb	++	+	IIb
	IIb	++	+	—	IIb	++	+	IIb
Red	I	+++	+++	++	I	+++	++	I
	IIc	+++	+++	++	IIc	+++	++	IIc
Pink	IIb	++	+	+	IIb	++	+	IIb
	I	+++	+++	++	I	+++	++	I
	IIc	+++	+++	++	IIc	+++	++	IIc

Staining intensity: + = staining intensity between 0 and ++; ++ = staining intensity between + and +++; +++ = heavy staining; ++++ = very heavy staining.

表三 花身雞魚在不同發育階段中白肌、紅肌與粉紅肌纖維之能量來源比較
Table 3. Summary the energy source characteristics of the fiber types in white, red, and pink muscles of tigerperch, *Terapon jarbua* from juvenile to adult development stage.

<u>Glycogen</u>				<u>Lipid</u>			
Type	Juvenile	Young	Adult	Type	Juvenile	Young	Adult
White	IIb	++	+	IIb	0	0	0
	IIb	++	—	IIb	0	0	—
Red	I	+++	++	I	+	+	+
	IIc	+++	+++	IIc	++	++	++
Pink	IIb	++	+	IIb	0	0	0
	I	+++	++	I	+	+	+
	IIc	+++	+++	IIc	++	++	++

Staining intensity: 0 = no staining; + = staining intensity between 0 and ++; ++ = staining intensity between + and +++; +++ = heavy staining; ++++ = very heavy staining.