

文章编号: 1674 - 5566(2016)03 - 0367 - 07

DOI:10.12024/j.sou.20150401414

褐菖鲉发声肌中小清蛋白的特性及肌肉纤维的超微结构特性

谢伟^{1,2}, 张旭光^{1,2,3,4}, 郭弘艺^{1,2,3,4}, 宋佳坤^{1,2,3,4}

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 海洋生物系统与神经科学研究所, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 4. 上海海洋大学 国际海洋研究中心, 上海 201306)

摘要: 通过对褐菖鲉发声系统的研究, 尤其是发声肌形态、小清蛋白含量和肌纤维超微结构等特征, 发现褐菖鲉发声肌和白色肌肉中小清蛋白分子量均为 10 ~ 14 ku。在白色肌肉肌纤维显微结构中, 三联体(一个 T 小管 + 两个肌质网终池) 仅处于 Z 膜, 而在发声肌纤维中, 三联体不仅在 Z 膜处, 也在 A 带与 I 带交界处。与白色肌相比, 发声肌超微结构中的肌质网更宽, 肌膜更发达。在发声肌细胞中, 线粒体多且聚集; 而白肌细胞中, 线粒体相对少且分散。结果显示: 在褐菖鲉发声肌的快速收缩中, 小清蛋白可能没有起重要作用, 而是发达的肌膜、三联体和肌质网结构确保了该特殊肌肉快速收缩和放松的发声功能与行为, 同时, 大量聚集的线粒体保证其发声肌的持续工作能力。

关键词: 褐菖鲉; 发声肌; 小清蛋白; 三联体

中图分类号: S 917.4; Q 959.4 **文献标志码:** A

褐菖鲉 (*Sebasticus marmoratus*) 隶属鲉形目 (Scorpaeniformes), 鲉科 (Scorpaenidae), 菖鲉属 (*Sebasticus*), 为暖温岩礁性鱼类, 定居性强, 在遭遇入侵的敌害或同类时, 可通过鱼鳔两侧的发声肌快速收缩带动鱼鳔振动发出声音进行防御^[1-2]。鱼类的发声肌被认为是一种收缩速度极快的肌肉, 收缩频率可达 100 ~ 200 Hz^[3-4]。发声肌纤维的结构和生化特性是影响其快速收缩的重要因素。最近研究表明, 对于脉冲型发声鱼类, 在其发声的脉冲间隔内, 肌浆内的小清蛋白通过提高钙离子转运速度, 从而保证发声肌的快速收缩^[5]; 对于连续型发声鱼类, 小清蛋白的促进作用不太显著, 但肌纤维的形态特异性可能是其快速收缩的基础^[5]。褐菖鲉的发声是单个脉冲发声和连续发声同时存在的混合型发声模式^[1-2], 其发声肌的快速收缩机制仍不清楚。本文旨在确定褐菖鲉发声肌的分布模式及类型, 比较褐菖鲉发声肌与白色肌肉的小清蛋白含量和

超微结构的差异, 以确定褐菖鲉发声肌快速收缩的机制。同时为鲉形目鱼类的发声模式、发声肌快速收缩的机制提供基础参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用褐菖鲉于 2013 年 10 - 12 月, 购自浙江省舟山枸杞岛 (122°45. 787'E, 30°43. 235'N) 渔民渔获物, 共 30 尾健康成体, 体长为 15.3 ~ 18.1 cm, 体质量为 52.7 ~ 106.4 g, 运至实验室内暂养一周。暂养槽规格为 100 cm × 40 cm × 45 cm, 水温为 20 ~ 24 °C, 暂养期间投喂活体杂鱼和人工配合颗粒饲料。4 条褐菖鲉用适量三卡因甲基磺酸盐 (MS-222) 麻醉后杀死, 放在冰上解剖, 用于观察褐菖鲉发声肌的形态和位置; 20 条褐菖鲉用于蛋白质印迹实验; 6 条褐菖鲉用 2.5% 戊二醛固定, 用于透射电镜观察。

收稿日期: 2015-04-21 修回日期: 2015-05-29

基金项目: 国家自然科学基金 (41406150); 国家重点基础研究发展计划 (2011CB111608); 上海海洋大学国际海洋研究中心 (A - 209 - 5 - 0802)

作者简介: 谢伟 (1989—), 男, 硕士, 研究方向为鱼类发声及肌肉收缩机制。E-mail: xw190806029@126.com

通信作者: 宋佳坤, E-mail: jksong@shou.edu.cn

1.2 实验方法

1.2.1 肌肉蛋白提取

将发声肌(404 ~ 502 mg)和躯干白色肌肉(460 ~ 620 mg)分别置于研钵中,加液氮,把肌肉研磨成粉末。各取 280 mg 肌肉粉末放入 1.5 mL 离心管中,加入 1 mL 的 RIPA 裂解液,用匀浆器适当搅拌。把含有样品的离心管放入 4 °C 冰箱中裂解 2.5 h 后,即刻用离心机在 4 °C、12 000 r/min 条件下离心 15 min,取 0.5 mL 上清分装于 1.5 mL 离心管中,加入 0.5 mL 的 2 × 上样缓冲液,离心管置于 95 °C 水浴锅中煮 10 min。最后放入 -40 °C 冰箱待用。取剩余上清蛋白用 BCA 蛋白浓度试剂盒测定蛋白浓度。

1.2.2 SDS-PAGE 检测

各取发声肌和躯干白色肌肉 15 μL 样品进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶(4% ~ 15% 梯度胶)电泳分离,电压为 240 V,当溴酚蓝距离分离胶底端 1 cm 时停止电泳。取下凝胶进行考马斯亮蓝染色,最后用蒸馏水脱色观察蛋白条带。

1.2.3 Western blot 检测

各取发声肌和躯干白色肌肉 15 μL 样品进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶(4% ~ 15% 梯度胶)电泳分离,电压为 240 V,当溴酚蓝距离分离胶底端 1 cm 时停止电泳。分离的蛋白在 200 mA 条件下转膜 70 min,将目的蛋白转移到 PVDF 膜上,用 TBST 洗膜,室温下用新鲜的 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, TBST 洗膜后分别加入 TBST 稀释的一抗 [Monoclonal Anti-Parvalbumin antibody (1:3 000) 和 GAPDH(1:2 000)] 4 °C 过夜; TBST 洗涤 20 min × 3 次,加入 TBST 稀释的辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗小鼠二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h, TBST 洗涤 20 min × 3 次,化学发光 2 min,在暗室中感光。以 GAPDH 为内参,统计各组蛋白与 GAPDH 吸光度的比值。

1.2.4 统计学分析

实验结果用 $\bar{X} \pm SE$ 表示。应用 SPSS 13.0 进行统计分析,采用单因素方差分析。实验组与对照组比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为具有显著差异, $P < 0.01$ 为具有极显著差异。

1.2.5 透射电镜观察

分别取发声肌和躯干白色肌肉 1 mm × 1 mm,用 0.1 mol/L 的 PB 清洗组织,前固定在 4 °C、2.5% 戊二醛中 2 h 以上。用 0.1 mol/L 的 PB

漂洗 20 min × 2 次后固定在 1% 锇酸中 2 h。用 ddH₂O 漂洗 20 min × 3 次。用 30%、50% 的乙醇依次脱水,每次 10 min,然后把组织放在 4 °C、70% 乙醇 + 3% 醋酸双氧铀混合液中脱水过夜。用 80% 乙醇脱水 10 min,95% 乙醇脱水 10 min,100% 乙醇脱水 10 min × 3 次,环氧丙烷置换 15 min × 2 次,环氧丙烷与 812 树脂包埋液 [812 环氧树脂:4.5 g, DDSA (十二烯基琥珀酸酐):4.5 g, DBP (邻苯二甲酸二丁酯):0.15 g, DMP-30 (2,4,6-三苯酚):0.007 5 mL] 以 1:1 比例浸透组织 2 ~ 4 h,然后环氧丙烷与 812 树脂包埋液以 1:2 比例浸透组织过夜。用 812 树脂包埋液纯浸透组织 6 h,然后用 812 树脂包埋液包埋组织,37 °C 烘箱过夜,45 °C 烘箱过夜,65 °C 烘箱至完全凝固。切片 (LKB-V 型,瑞典) 切成超薄切片 (60 ~ 80 nm),铅铀染色后透射电镜 (PHILIP, CM-120) 观察并拍照。

2 结果

2.1 褐菖鲉发声肌的形态及分布

雄性和雌性褐菖鲉都有一对外在发声肌,左右对称地分布在鱼鳔两侧。褐菖鲉发声肌呈细长状,白色且有光泽,发声肌的前端与鱼颅的翼耳骨相连,后端与鱼鳔末端相连(图 1)。

2.2 小清蛋白检测

2.2.1 SDS-PAGE 电泳检测

褐菖鲉发声肌肉、白色肌肉的 SDS-PAGE 电泳结果见图 2。依据之前的研究^[4]以及褐菖鲉发声肌和白色肌肉 Western blot 结果,发声肌和白色肌肉中小清蛋白分子量大小为 11 ~ 14 ku。

2.2.2 Western blot 检测

在实验组中,雄性、雌性褐菖鲉发声肌肉中 Parvalbumin/GAPDH 吸光度比值分别为 0.087 ± 0.04 、 0.288 ± 0.29 (图 4)。在对照组中,雄性、雌性褐菖鲉白色肌肉中 Parvalbumin/GAPDH 吸光度比值分别为 1.124 ± 0.08 、 1.354 ± 0.13 (图 4)。实验组与参照组相比发现,雄鱼白色肌肉中小清蛋白含量显著高于雄鱼发声肌中小清蛋白含量 ($P < 0.01$),雌鱼白色肌肉中小清蛋白含量显著高于雌鱼发声肌中小清蛋白含量 ($P < 0.01$)。暗示小清蛋白在褐菖鲉发声肌快速收缩中可能没起到重要作用。

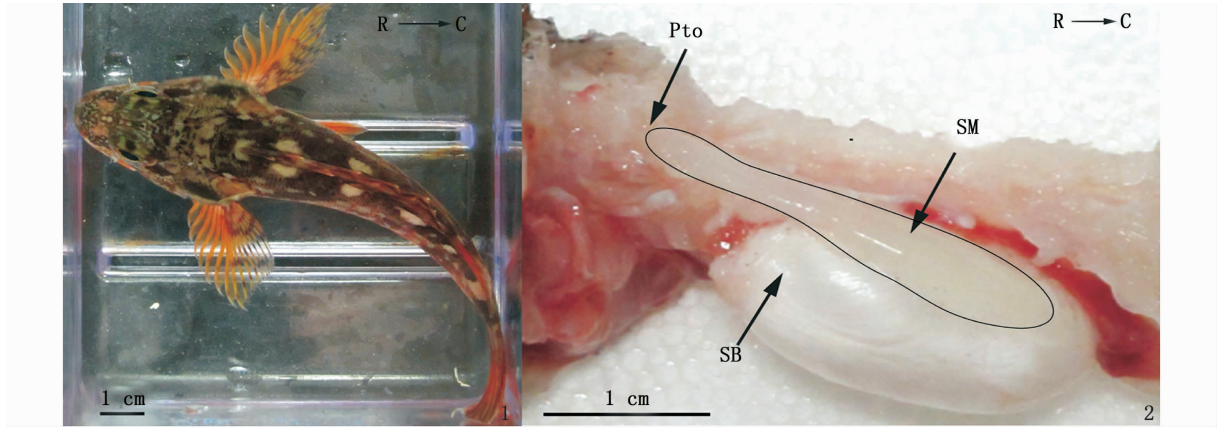


图 1 褐菖鲉及其发声肌和鱼鳔

Fig.1 *Sebasticus marmoratus* and its sonic muscles and swim bladder

1. 褐菖鲉俯视图; 2. 褐菖鲉的发声肌和鱼鳔。Pto. 翼耳骨; SM. 发声肌; SB. 鱼鳔。

1. The dorsal view of *Sebasticus marmoratus*; 2. The sonic muscles and swim bladder of *Sebasticus marmoratus*; Pto. pterotic bone; SM. sonic muscles; SB. swim bladder.

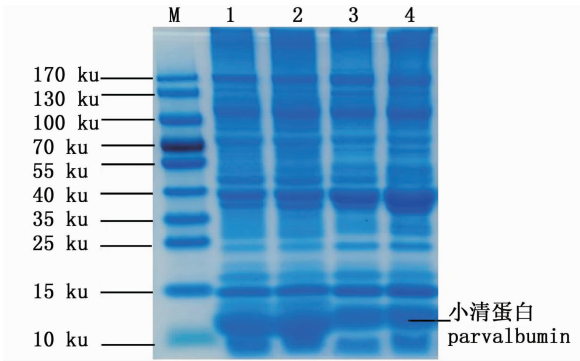


图 2 褐菖鲉发声肌和白色肌肉的 SDS-PAGE 检测

Fig.2 SDS-PAGE of *Sebasticus marmoratus*'s sonic muscle and white muscle

M. protein marker; 1. 雄鱼发声肌; 2. 雌鱼发声肌; 3. 雄鱼白肌; 4. 雌鱼白肌。

1. the sonic muscles of males; 2. the sonic muscles of females; 3. the white muscles of males; 4. the white muscles of females.

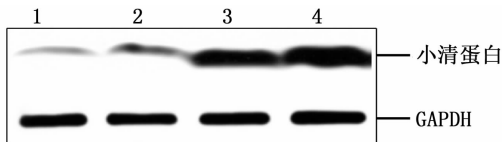


图 3 Western blot 检测褐菖鲉发声肌和白色肌肉中小清蛋白表达的条带

Fig.3 The expressive banding of parvalbumin of *Sebasticus marmoratus*'s sonic muscles and white muscles

1. 雄鱼发声肌; 2. 雌鱼发声肌; 3. 雄鱼白肌; 4. 雌鱼白肌。
1. the sonic muscles of males; 2. the sonic muscles of females; 3. the white muscles of males; 4. the white muscles of females.

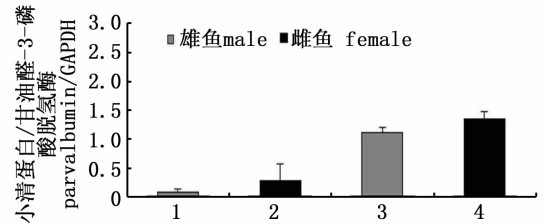


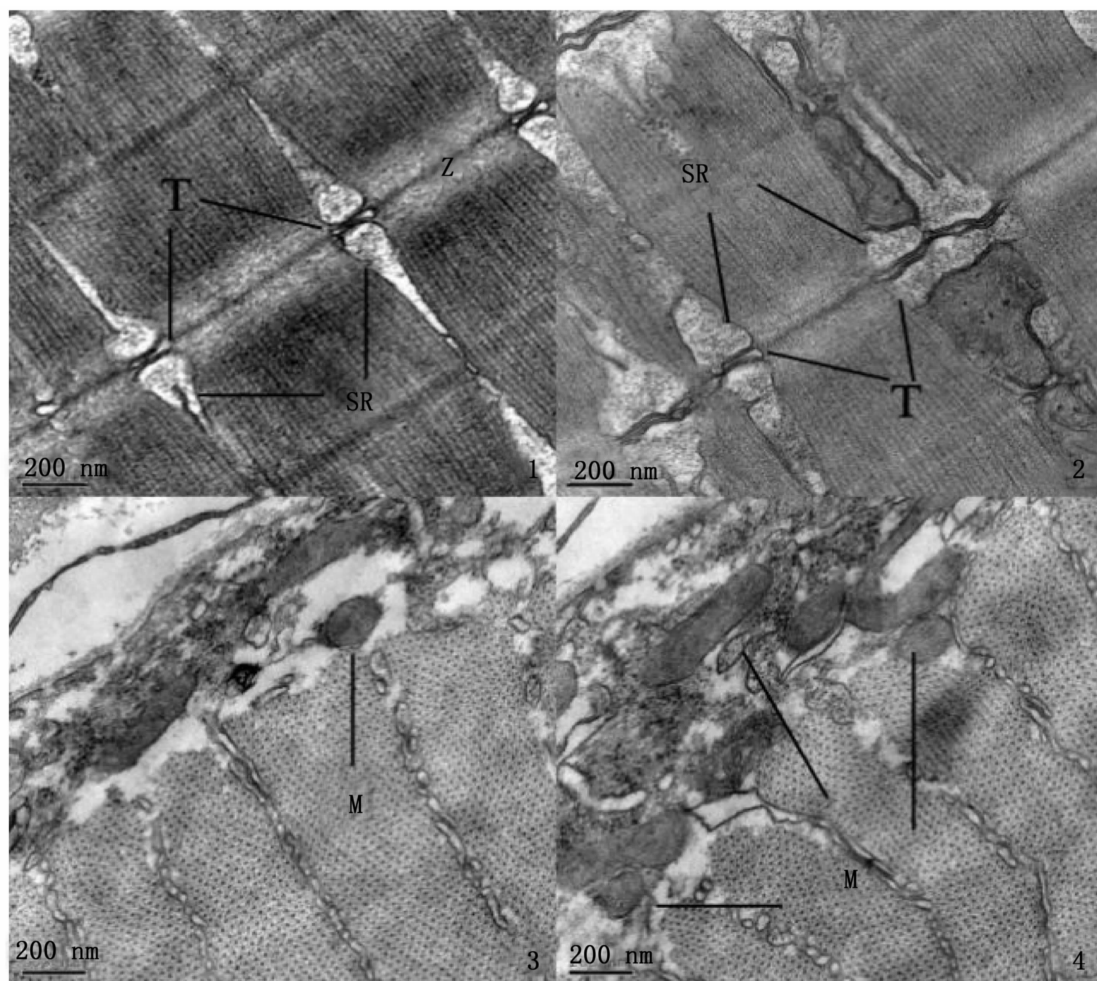
图 4 小清蛋白/甘油醛-3-磷酸脱氢酶的比率 (n=4)

Fig.4 The ratio of Parvalbumin/GAPDH (n=4)

1. 雄鱼发声肌; 2. 雌鱼发声肌; 3. 雄鱼白肌; 4. 雌鱼白肌。
1. the sonic muscles of males; 2. the sonic muscles of females; 3. the white muscles of males; 4. the white muscles of females.

2.3 褐菖鲉发声肌和白色肌肉的超微结构

在褐菖鲉白色肌肉纤维中,三联体(一个 T 小管 + 两个肌质网终池)在 Z 膜处(图版 - 1)。这在鱼类白色肌肉中是一个普遍现象。在发声肌肉中,三联体不仅在 Z 膜处,也在 A 带与 I 带交界处(图版 - 2)。这种情况极其少见,可能有特殊作用。发声肌中的肌质网比白色肌肉中的肌质网更宽[发声肌肌质网宽度(314.29 ± 35.45) nm,白色肌肉肌质网宽度(142.86 ± 26.49 nm)](图版 - 1,2)。与褐菖鲉白色肌肉相比,发声肌的肌膜更加发达(图版 - 3,4)。在褐菖鲉发声肌中,线粒体多,并且聚集在一起。在白色肌肉中,线粒体相对比较较少且分散(图版 - 3,4)。暗示发声肌的快速收缩有大量能量提供。



图版 褐菟鲳白色肌肉和发声肌的透射电镜图片

Plate The TEM micrographs illustrating the white muscle fibers and sonic muscle fibers in *Sebasticus marmoratus*

1. 白色肌肉的横截面 ($\times 50\ 000$); 2. 发声肌的横截面 ($\times 50\ 000$); 3. 白色肌肉的纵截面 ($\times 50\ 000$); 4. 发声肌的纵截面 ($\times 50\ 000$); T: T 小管; SR: 肌质网; Z: Z 膜; M: 线粒体。

1. the horizontal section of white muscles ($\times 50\ 000$); 2. the horizontal section of sonic muscles ($\times 50\ 000$); 3. the cross section of white muscles ($\times 50\ 000$); 4. the cross section of sonic muscles ($\times 50\ 000$). T: T tubule; SR: sarcoplasmic reticulum; Z: Z-line; M: mitochondria.

3 讨论

发声肌分为外在性发声肌和内在性发声肌。外在发声肌起源于鱼鳔外部, 邻近或者连接着鱼鳔, 被发现的物种有: 潜鱼科、金鳞鱼科和石首鱼科^[6-8]。内在发声肌完全附着在鱼鳔上, 被发现的物种有: 毒棘豹蟾鱼(蟾鱼科)和锯鲂鲋(鲂鲋科)^[9-10]。

褐菟鲳的发声是利用发声肌快速收缩带动鱼鳔振动产生的。发声肌的生化特性和肌纤维的结构是影响其快速收缩的重要因素。

发声肌的收缩-舒张循环是由肌浆内钙离子

浓度改变控制的。小清蛋白作为维持细胞内钙离子交换的钙结合蛋白, 是脊椎动物体内肌浆蛋白的主要组成部分, 在调节细胞内钙离子交换中起重要作用。在肌肉放松阶段, 钙离子在肌质网中, 肌浆内的小清蛋白结合着镁离子; 一旦有动作电位产生, 肌质网释放钙离子, 肌浆内的钙离子会先和肌钙蛋白 C 结合, 导致肌肉收缩; 随着镁离子的解离, 小青蛋白会搬走肌钙蛋白 C 上的钙离子, 导致肌肉处在一种收缩和放松之间的过渡状态; 在放松阶段, 小青蛋白解离钙离子, 钙离子通过 Ca^{2+} -ATP 泵回到肌质网中, 镁离子结合小青蛋白^[11]。之前有研究表明小青蛋白含量和

肌肉放松速度呈正相关^[12],还有研究表明小清蛋白有能力使肌肉放松加快^[13]。

有文献报道,毒棘豹蟾鱼(*Opsanus tau*)发声主频 100 Hz,脉冲周期 400 ms,脉冲间隔 5 ~ 15 s^[14]。小清蛋白在毒棘豹蟾鱼发声肌中的含量是白色肌肉中的 3 倍,这可能跟发声肌快速收缩有关^[4,15]。在毒棘豹蟾鱼发声肌收缩-舒张过渡阶段,大量 ATP 水解,释放出能量,驱动肌浆内的钙离子泵入肌质网腔中储存起来。为了缓解此刻能量的不足,大量小清蛋白结合了大量钙离子,在脉冲间隔以 0.1 s 的解离率解离钙离子,肌浆内所有钙离子耗时 3 ~ 5 s 经 Ca^{2+} -ATP 泵回到肌质网中^[4]。褐菖鲉发声肌包括有间隔脉冲和连续脉冲^[1-2],间隔脉冲主频 168 Hz,脉冲周期 30 ms,脉冲间隔 0.05 ~ 0.08 s,发声肌中小清蛋白含量少于白色肌肉中的含量,但含有大量线粒体。由于脉冲间隔较短,导致小清蛋白长期处于钙饱和状态,使其对钙离子的转移没起作用,这时,大量的线粒体提供了充足的能量使钙离子泵入肌质网腔。类似的情况,斑光蟾鱼(*Porichthys notatus*)发声主频 80 ~ 100 Hz,能持续发声一个多小时,没有脉冲间隔^[5]。发声肌中小清蛋白的含量少于白色肌肉中的含量^[5],但是发声肌中含有大量线粒体。由于没有脉冲间隔,小清蛋白也长期处于钙饱和状态,使其对钙离子的转移没起作用,大量的线粒体提供了充足的能量使钙离子泵入肌质网腔。

另外,小清蛋白是一种进化蛋白,一些亚型可存在于单一的肌肉细胞中。几种小清蛋白亚型已经被鉴定存在于鱼的骨骼肌肉中。针潜鱼(*Carapus acus*)发声肌包括 3 种小清蛋白(PA)亚型(PA1、PA2、PA3),白色肌肉包括两种 PA 亚型(PA2、PA3)^[16]。毒棘豹蟾鱼发声肌包括 5 种 PA 亚型(PA1、PA1a、PA2、PA3、PA3a),白色肌肉包括 3 种 PA 亚型(PA1、PA2、PA3)^[5]。在斑光蟾鱼中,发声肌和白色肌肉都包括 3 种 PA 亚型(PA1、PA2、PA3)^[5]。但是,小清蛋白 PA1 在毒棘豹蟾鱼、斑光蟾鱼、针潜鱼发声肌的含量高于白色肌肉,暗示小清蛋白 PA1 可能在发声肌快速收缩中起着重要作用^[5,16]。

尽管小清蛋白并不是在所有发声肌收缩中起主要作用,但不同发声鱼类可能衍生了不同的机制来适应发声肌快速收缩。对褐菖鲉发声肌

结构超微观察发现 4 个特点:三联体发达,肌膜发达,肌质网发达,线粒体多且集中。

三联体(一个 T 小管 + 两个肌质网终池)的功能是将肌膜的兴奋经 T 小管和三联体连接传至肌质网膜,引起钙泵活动,使肌浆网储存的钙离子迅速释放到肌浆内,为肌肉收缩创造必备条件。在硬骨鱼白色肌肉中,三联体通常在 Z 膜处^[17]。在毒棘豹蟾鱼发声肌中,三联体在 A 带与 I 带交联处,这有助于加快钙离子的扩散与吸收^[18],在骨骼肌纤维中,膜表面动作电位沿着 T 小管向内传播,引起肌质网终池释放钙离子。三联体位于 A 带与 I 带交联处的每一个肌节包括 4 个肌质网终池,三联体位于 Z 膜处的每个肌节只包括 4 个肌质网终池,在此基础上,三联体位于 A 带与 I 带交联处的肌节更适合钙离子的快速扩散和吸收^[19]。在褐菖鲉白色肌肉中,三联体仅仅在 Z 膜处。在褐菖鲉发声肌中,三联体不仅在 Z 膜处,也在 A 带与 I 带交联处,在脊椎动物肌肉中,这种适应很特别,很可能有助于钙离子的扩散,也可能有助于发出各种模式的声音。

与褐菖鲉白色肌肉相比,发声肌的肌膜更加发达。更有助于动作电位的传播,引起钙离子的快速释放和吸收。在褐菖鲉白色肌肉中,线粒体相对较少且分散。褐菖鲉发声肌中,线粒体多,并且聚集在一起,这种特征保证了充足能量的供应^[20-22],允许发声肌比白色肌肉有更好的抗疲劳能力^[17],也有助于长时间发声^[9]。与褐菖鲉白色肌肉相比,褐菖鲉发声肌肌质网更加发达,暗示发声肌能适应快速收缩^[23]和拥有抗疲劳能力^[24]。发声肌似乎发育出了一全套复杂的系统来适应快的收缩速度,现在没有足够的信息来说明这套复杂系统中的一些是物种普遍拥有的还是某些物种特有的。例如,在硬骨鱼发声肌中,呈径向分布的纤维和直径小的纤维通常是普遍的^[3,20-21,25]。从代谢角度来看,褐菖鲉发声肌和斑光蟾鱼发声肌拥有大量线粒体,但是毒棘豹蟾鱼发声肌没有大量线粒体^[20-21]。其他研究者发现,毒棘豹蟾鱼发声肌肉中的肌球蛋白轻链、肌钙蛋白、肌质网 ATP 酶都经过高度修饰^[15,23,26]。

我们的研究显示:在褐菖鲉发声肌的快速收缩中,小清蛋白可能没有起重要作用,而是发达的肌膜、三联体和肌质网结构确保了该特殊肌肉快速收缩和放松的发声功能与行为,同时,大量

聚集的线粒体保证了其发声肌的持续工作能力。

参考文献:

- [1] 张旭光, 谢伟, 郭弘艺, 等. 褐菖鲉发声系统形态结构及其发声特征研究[J]. 上海海洋大学学报, 2013, 22(5): 672-677.
ZHANG X G, XIE W, GUO H Y, et al. The morphology of sonic system and sound characteristics of the marbled rockfish *Sebastes marmoratus* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 22(5): 672-677.
- [2] ZHANG X G, GUO H Y, ZHANG S Y, et al. Sound production in marbled rockfish (*Sebastes marmoratus*) and implications for fisheries[J]. Integrative Zoology, 2015, 10(1): 152-158.
- [3] LOESSER K E, RAFI J, FINE M L. Embryonic, juvenile, and adult development of the toadfish sonic muscle[J]. The Anatomical Record, 1997, 249(4): 469-477.
- [4] ROME L C. Design and function of superfast muscles: new insights into the physiology of skeletal muscle[J]. Annual Review of Physiology, 2006, 68(1): 193-221.
- [5] TIKUNOV B A, ROME L C. Is high concentration of parvalbumin a requirement for superfast relaxation? [J]. Journal of Muscle Research and Cell Motility, 2009, 30(1/2): 57-65.
- [6] PARMENTIER E, DIOGO R. Evolutionary trends of swimbladder sound mechanisms in some teleost fishes[M]// LADICH F, COLLIN S P, MOLLER P, et al. Fish Communication. USA: Science Publisher, 2006: 43-68.
- [7] CARLSON B A, BASS A H. Sonic/vocal motor pathways in squirrelfish (Teleostei, Holocentridae)[J]. Brain Behavior and Evolution, 2000, 56(1): 14-28.
- [8] SPRAGUE M W. The single sonic muscle twitch model for the sound-production mechanism in the weakfish, *Cynoscion regalis*[J]. Acoustical Society of America, 2000, 108(5): 2430-2437.
- [9] BASS A H, MARCHATERRE M A. Sound-generating (sonic) motor system in a teleost fish (*Porichthys notatus*): sexual polymorphism in the ultrastructure of myofibrils[J]. Journal of Comparative Neurology, 1989, 286(2): 141-153.
- [10] CONNAUGHTON M A. Sound generation in the searobin (*Prionotus carolinus*), a fish with alternate sonic muscle contraction[J]. Journal of Experimental Biology, 2004, 207(10): 1643-1654.
- [11] HEIZMANN C W. Parvalbumin, and intracellular calcium-binding protein; distribution, properties and possible roles in mammalian cells[J]. Experientia, 1984, 40(9): 910-921.
- [12] KLUG G A, LEBERER E, LEISNER E, et al. Relationship between parvalbumin content and the speed of relaxation in chronically stimulated rabbit fast-twitch muscle[J]. Pflügers Archiv, 1988, 411(2): 126-131.
- [13] SZATKOWSKI M L, WESTFALL M V, GOMEZ C A, et al. In vivo acceleration of heart relaxation performance by parvalbumin gene delivery [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2001, 107(2): 191-198.
- [14] WAHR P A, MICHELE D E, METZGER J M. Parvalbumin gene transfer corrects diastolic dysfunction in diseased cardiac myocytes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999, 96(21): 11982-11985.
- [15] APPELT D, SHEN V, FRANZINI-ARMSTRONG C. Quantitation of Ca ATPase, feet and mitochondria in superfast muscle fibers from the toadfish, *Opsanus tau*[J]. Journal of Muscle Research & Cell Motility, 1991, 12(6): 543-552.
- [16] PARMENTIER E, GENNOTTE V, FOCANT B, et al. Characterization of the primary sonic muscles in *Carapacus acus* (Carapidae): a multidisciplinary approach[J]. Proceedings of Biological Sciences, 2003, 270(1530): 2301-2308.
- [17] AKSTER H A. Ultrastructure of muscle fibres in head and axial muscles of the perch (*Perca fluviatilis* L.) [J]. Cell and Tissue Research, 1981, 219(1): 111-131.
- [18] EICHELBERG H. The fine structure of the drum muscles of the tigerfish, *Therapon jarbua*, as compared with the trunk musculature[J]. Cell and Tissue Research, 1976, 174(4): 453-463.
- [19] PORTER K R. The sarcoplasmic reticulum Its recent history and present status [J]. The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology, 1961, 10(4): 219-226.
- [20] ONO R D, POSS S G. Structure and innervation of the swim bladder musculature in the weakfish, *Cynoscion regalis* (Teleostei; Sciaenidae) [J]. Canadian Journal of Zoology, 1982, 60(8): 1955-1967.
- [21] FINE M L, BERNARD B, HARRIS T M. Functional morphology of toadfish sonic muscle fibers: relationship to possible fiber division [J]. Canadian Journal of Zoology, 1993, 71(11): 2262-2274.
- [22] CONNAUGHTON M A, FINE M L, TAYLOR M H. The effects of seasonal hypertrophy and atrophy on fiber morphology, metabolic substrate concentration and sound characteristics of the weakfish sonic muscle[J]. The Journal of Experimental Biology, 1997, 200(18): 2449-2457.
- [23] FEHER J J, WAYBRIGHT T D, FINE M L. Comparison of sarcoplasmic reticulum capabilities in toadfish (*Opsanus tau*) sonic muscle and rat fast twitch muscle [J]. Journal of Muscle Research & Cell Motility, 1998, 19(6): 661-674.
- [24] BASS A H, MCKIBBEN J R. Neural mechanisms and behaviors for acoustic communication in teleost fish [J]. Progress in Neurobiology, 2003, 69(1): 1-26.
- [25] HIRSCH J E, BIGBEE J W, FINE M L. Continuous adult development of multiple innervation in toadfish sonic muscle [J]. Journal of Neurobiology, 1998, 36(3): 348-356.
- [26] HAMOIR G, GERARDIN-OTTHIERS N, FOCANT B. Protein

differentiation of the superfast swimbladder muscle of the
toadfish *Opsanus tau* [J]. Journal of Molecular Biology, 1980, 143(1): 155 - 160.

Characteristics of the parvalbumin and the ultrastructure in the sonic muscle of the marbled rockfish, *Sebasticus marmoratus*

XIE Wei^{1,2}, ZHANG Xuguang^{1,2,3,4}, GUO Hongyi^{1,2,3,4}, SONG Jiakun^{1,2,3,4}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute for Marine Biosystem and Neuroscience, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 4. Shanghai Ocean University International Center for Marine Studies (SHOU-ICMS), Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: This anatomical, biochemical and the ultrastructural study on the sound production system in marbled rockfish *Sebasticus marmoratu* is focused on characteristics of the parvalbumin and the ultrastructure of the sonic muscle. The results reveal that the molecular weight of parvalbumin is about 10 ~ 14 ku in both sonic muscle and the white muscle of the fish. The TEM micrograph reveals the ultrastructural characteristics of the muscle fibers, among that the T system/SR of the sonic muscle are typically at both the Z-lines and A/I junctions, but are at the level of the Z-line only in the white muscle fibers. Sarcoplasmic reticulum and cell membranes in the sonic muscle fibers are wider and more developed than those in the white muscle. Moreover, there are more mitochondria which are crowded together in the sonic muscle cell, by contrasting, that are relatively fewer and are scattered in the white muscle cell. Our results suggest that: in marbled rockfish, the parvalbumin may not be playing an important role in the fast contraction of the sonic muscle, but the wide sarcoplasmic reticulum and enhanced cell membrane, the T system/sarcoplasmic reticulum, these ultrastructural advances may ensure the rapid contraction function of the sonic muscles for sound production. The feature of large amount of crowded mitochondria in the sonic muscle cells may enable the fish to produce the sound.

Key words: *Sebasticus marmoratus*; sonic muscle; parvalbumin; T system/sarcoplasmic reticulum