



## 中华鲟硬组织微结构及微化学的特征探索

姜涛<sup>1</sup>, 王成友<sup>2</sup>, 杜浩<sup>2</sup>, 张书环<sup>2</sup>,  
刘洪波<sup>1</sup>, 危起伟<sup>2\*</sup>, 杨健<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223)

**摘要:** 为了在中华鲟洄游生态学研究上有新突破, 实验首次比较研究了中华鲟3种硬组织(耳石、背骨板和胸鳍条)的微结构和微化学特征。结果发现, 耳石结构松散, 存在多个耳砂(微晶球霏石球晶)颗粒, 且每个颗粒均具有独立的核; 背骨板存在分层现象; 胸鳍条结构较为致密, 且均一。胸鳍条、耳石中生境元素 Co/Ca、Sr/Ca 和 Ba/Ca 比特征变化较为一致, 而背板由于分层的原因与前二者有所差异。综合考虑非致死性采样、前处理难度、微结构组成以及生境元素生物积累等优势, 笔者建议首选胸鳍条作为基于微化学分析来反演中华鲟洄游及生活史履历研究的最佳硬组织材料。

**关键词:** 中华鲟; 耳石; 背骨板; 胸鳍条; 微结构; 微化学

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 是我国特有的濒危保护洄游型鱼类, 属于一级重点保护水生动物、国际自然保护联盟 (International Union for Conservation of Nature, IUCN) 极危种 (critically endangered, CR)。其首次性成熟的平均年龄雌性为 18 年, 雄性为 12 年, 每年 10—11 月为繁殖季节<sup>[1]</sup>。由于中华鲟对产卵场有着较为独特的水文条件需求, 加之长江水利工程对洄游通道的阻隔导致其资源量剧减<sup>[2]</sup>, 目前已知的产卵场仅有葛洲坝及其下游江段<sup>[3-4]</sup>。更令人担忧的是, 2013—2014 年, 中华鲟在葛洲坝下产卵场的繁殖活动中断, 严重威胁到其种群繁衍。然而, 2015 年春季于长江口捕获到 2014 年繁殖的幼鱼, 提示其产卵场位置可能发生了改变<sup>[5]</sup>。作为溯河洄游型鱼类, 中华鲟复杂的海淡水活动履历, 及其数十年的生命周期, 导致客观研究其生境履历、

种群动态、产卵场可能的变动等关键问题难度较大。作为国家一级保护动物, 其种群数量很小, 传统的调查手段很难有效开展, 如何破解以上难题已成为研究其洄游生态学的新突破。

迄今, 在硬骨鱼类洄游生态学的研究中, 耳石微化学已逐渐成为破解环境履历、洄游模式、产卵场定位、群体起源和关联性特征的重要手段<sup>[6-9]</sup>。然而, 属于软骨鱼类的中华鲟并无致密的耳石结构, 取而代之的是包含多个微晶球霏石球晶颗粒的耳砂结构<sup>[10]</sup>。由于摘取耳石的过程必然会导致鱼体死亡, 因此, 仅基于耳石来开展中华鲟的相关工作难度很大。随着鱼类微化学研究的发展, 胸鳍条、鳞片等作为非致死、低损伤采样的硬组织样品也被尝试用于洄游生态学研究<sup>[11-12]</sup>。以胸鳍条为例, 其剖面上可读取的年轮记录着鱼体自孵化至死亡时所有

收稿日期: 2019-10-29 修回日期: 2020-06-15

资助项目: 中国长江三峡集团公司科研资助项目 (201603073)

第一作者: 姜涛(照片), 从事渔业生态环境评价与保护研究, E-mail: jiangt@ffrc.cn;  
王成友, 从事濒危水生动物保护研究, E-mail: wangcy@yfi.ac.cn

通信作者: 危起伟, E-mail: weiqw@yfi.ac.cn; 杨健, E-mail: jiany@ffrc.cn



的时间动态信息;其制成薄片后,分析其生长半径(自胸鳍条中心至胸鳍条边缘)上的微化学信息,便具有了解该鱼体整个生活史过程中空间生境履历动态的潜力<sup>[13-14]</sup>。鱼类硬组织微化学分析常引入大型精密仪器,如电子探针微区分析仪(EPMA)和激光剥蚀电感耦合等离子质谱仪(LA-ICPMS)等,而这些仪器的研究对象多是矿物、金属等材料,其材质构成与鱼类硬组织有着天壤之别;且鱼类胸鳍条和背骨板等组织结构与以文石或方解石为主要结构的耳石显著不同,发育过程亦有差异;故胸鳍条和背骨板微化学研究将无法直接套用耳石的前处理方法。因此,尝试有效解决中华鲟硬组织微化学分析中最佳研究材料选择和前处理方法的技术难题,对今后形成相关的规范并在中华鲟洄游生态学上取得新突破具有十分重要的意义。本实验拟就3种中华鲟硬组织(耳石、胸鳍条和背骨板)进行微结构和微化学特征的比较研究,以期有效选择出最适合开展反演中华鲟生活史及生境履历研究的硬组织材料,同时为其他鱼类基于非耳石硬组织开展微化学分析提供有益的借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

中华鲟幼鱼标本于2015年6月采自长江常熟江段。摘取左侧第1胸鳍条以及第1背骨板,使用去离子水清洗后在无水乙醇(上海泰坦化学有限公司)中剥除胸鳍条和背骨板上附着的有机质。随后将其放入超纯水中超声清洗3 min。将清洗后的胸鳍条和背骨板移入40℃烘箱内烘干过夜,于内耳半规管中取出中华鲟耳石。同时为了比较中华鲟耳石结构的发育变化,采集了2尾人工繁殖个体(分别为孵化后13 d和94 d)的耳石,使用超纯水和无水乙醇清洗掉耳石表层附着物后,在40℃烘箱过夜干燥。

### 1.2 样品前处理

准备小块长方体环氧树脂块,用环氧树脂型胶水(Quick-30,小西株式会社)将胸鳍条和背骨板固定在树脂块上。随后将鳍条基部向下、背板呈竖直状固定于模具底部,并倒入环氧树脂和三乙烯四氨(质量比7:1,Struers公司,丹麦)所调配的混合试剂。随后放入40℃的烘箱内等待树脂凝固。使用500目粗砂纸(Struers公

司,丹麦)打磨树脂块底部至胸鳍条暴露、背板接近最大横截面,换用1200目细砂纸处理暴露的胸鳍条和背骨板表面至没有明显的深刻痕。随后将该面用环氧树脂型胶水粘贴于玻片上。使用切割机[Discoplan-TS,司特尔(上海)国际贸易有限公司]切除多余树脂部分,继续依次使用500目和1200目砂纸打磨胸鳍条和背骨板贴至玻片。最后使用抛光机(LabPol-35,Struers公司)依次采用抛光液(Md-Chem,Struers公司)和水对胸鳍条和背骨板表面进行连续抛光,随后使用超纯水超声清洗5 min后,于40℃烘箱过夜干燥。

参考Jiang等<sup>[6]</sup>对中华鲟耳石进行树脂包埋、贴片、打磨以及抛光处理,直至金相显微镜透、反射光源下核心均清晰可见。样品打磨结束后切除多余树脂和玻片,使用超纯水超声清洗5 min后,于40℃烘箱过夜干燥。

### 1.3 微化学分析

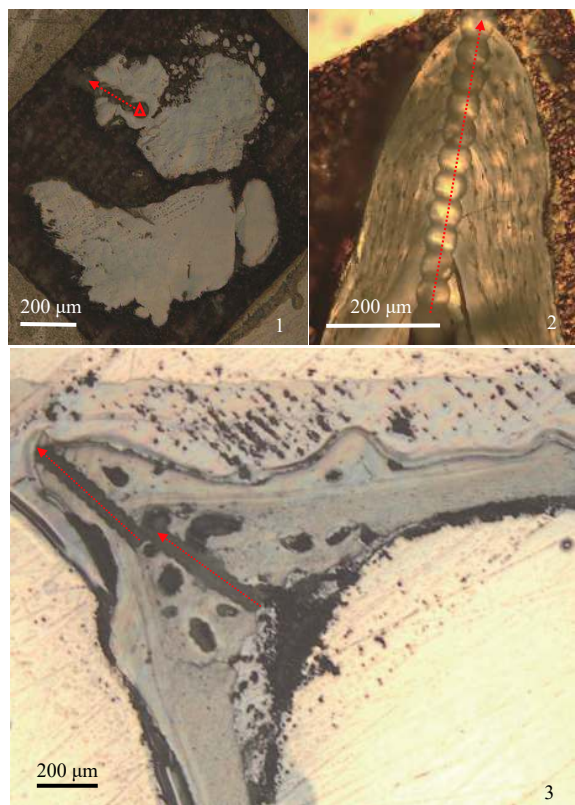
为确保样品表面的导电性,所有样品处理完后使用镀碳机(JEE420,日本电子株式会社)蒸镀碳膜(36 A,25 s)。随后,将已镀膜的样品放入电子探针微区分析仪(EPMA,JXA-8100,日本电子株式会社)进行耳石锶(Sr)、钙(Ca)和钡(Ba)元素含量面分布分析(加速电压15 kV,电子束电流 $5 \times 10^{-7}$  A,束斑直径为3 μm,每点驻留30 ms,像素3 μm×3 μm<sup>[15-16]</sup>)。

分析完成后,所有样品经过抛光除去表面的碳膜,清洗干燥以备多元素的激光剥蚀等离子电感耦合质谱分析(LA-ICPMS,NW213esi,美国New Wave公司;Agilent 7500ce ICPMS,美国Agilent公司)。其分析的方式为自硬组织内层(耳石为“核心”)向外侧连续打点分析(图版I)。分析点直径为50 μm,脉冲频率20 Hz,波长213 nm,间距为50 μm,分析标样为Nist612以及USGS MACS-3。检测元素为锂(Li)、钠(Na)、镁(Mg)、铝(Al)、钾(K)、Ca、钪(Sc)、钛(Ti)、钒(V)、铬(Cr)、锰(Mn)、铁(Fe)、钴(Co)、镍(Ni)、铜(Cu)、锌(Zn)、Sr、镉(Cd)及钡。

### 1.4 数据处理

为了更好地比较3种硬组织中元素含量的变化趋势,将其转换为与同时测得的Ca元素含量的比值,并对比值进行z-Score标准化:

$$Z = (X - M) / SD$$



图版 I 中华鲟硬组织微化学分析样线示意图

1. 耳石(红色三角所示为核心位置), 2. 胸鳍条, 3. 背骨板; 箭头为分析方向

**Plate I Transect line for microchemical analysis at the three hard tissues of *A. sinensis***

1. otolith (the red triangle shows the core), 2. pectoral fin ray, 3. dorsal scute; the arrow shows the direction

式中,  $X$  为自变量,  $M$  为平均值,  $SD$  为标准差<sup>[17]</sup>。

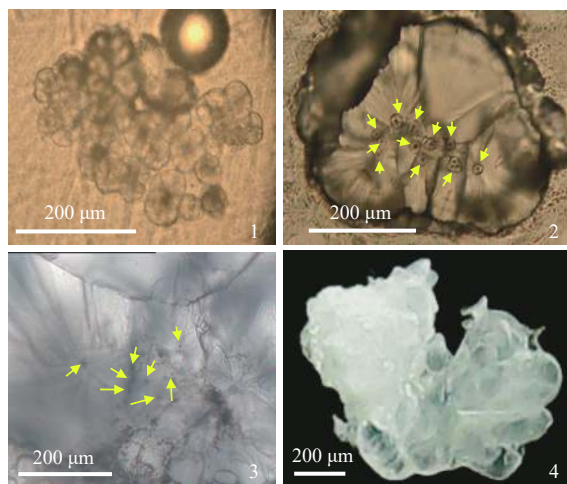
## 2 结果

### 2.1 中华鲟耳石、背骨板和胸鳍条微结构特征

相较于硬骨鱼类耳石, 中华鲟的耳石结构更为松散、复杂(图版 II-1)。从经过打磨的中华鲟耳石来看, 在靠近中间部分分布有多个核心(图版 II-2, 3)。通过仔稚鱼阶段的耳石来看, 中华鲟耳石在早期形成过程中便由多个独立的耳砂颗粒组成, 每个耳砂颗粒均有一个核心存在。随着其生长发育, 耳石新沉积的部分会将早期的耳砂颗粒包裹在其内(图版 II-2, 4), 继而形成中间多个核心的耳石结构(图版 II-3)。

中华鲟背骨板横截面可以看到明显的分层现象, 分为外侧的透明层和内侧的不透明层。

<https://www.china-fishery.cn>



图版 II 不同阶段中华鲟耳石

1. 孵化后 13 d, 2. 孵化后 94 d, 3、4. 常熟段野生个体; 箭头所示为核心

**Plate II Otolith of *A. sinensis* at the different life stages**

1. 13 days post-hatch, 2. 94 days post-hatch, 3, 4. wild individual from the Changshu section; the arrows show the cores

此外, 作为骨质结构, 背骨板上散布有骨小管结构(图 1)。



图 1 中华鲟背骨板

a. 透明层, b. 不透明层, c. 骨小管

**Fig. 1 Dorsal scute of *A. sinensis***

a. translucent thin zone; b. opaque zones; c. canaliculi

中华鲟鳍条横截面显示其质地紧密且较为均一, 不存在背骨板的分层现象, 剖面上散布有类似的骨小管结构(图 2)。由于本研究为中华鲟幼鱼, 因此剖面上未见有年轮。

### 2.2 中华鲟硬组织生境元素 Sr、Ca 和 Ba 含量的面分布分析

通过比较胸鳍条和背骨板 Sr、Ca 和 Ba 元素面分布分析, 结果显示, 二者 3 种元素分布都较为均一, 变现为纯蓝色的 Sr、橙色的 Ca 以及亮蓝色的 Ba 元素含量分布特征(图 3)。与这 2 种

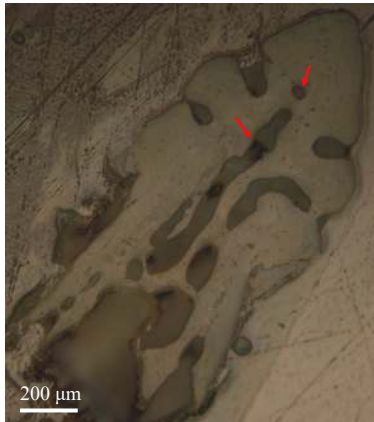


图 2 中华鲟胸鳍条

箭头所示为骨小管

Fig. 2 Pectoral fin ray of *A. sinensis*

The arrow shows the canalliculi

硬组织相比, 以上 3 种元素在耳石结构分布存在差异, 特别是 Sr 和 Ba 元素, 其中 Sr 含量高的部分 (亮蓝色) Ba 含量较低 (深蓝色)。

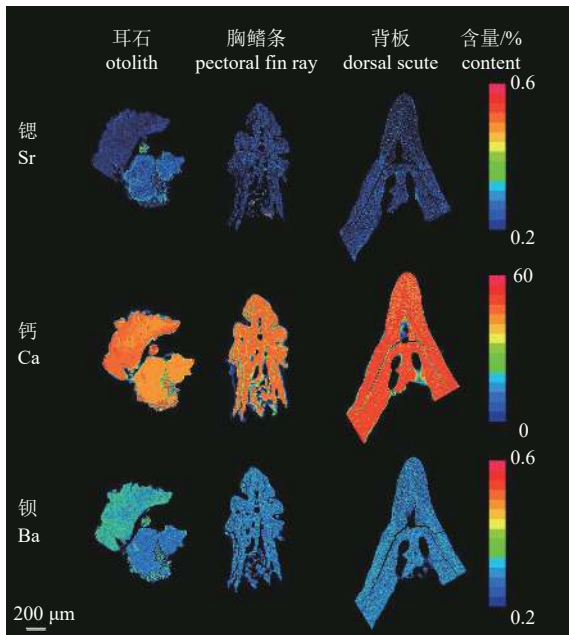


图 3 中华鲟耳石、胸鳍条和背骨板 Sr、Ca 以及 Ba 元素分布微化学图谱

Fig. 3 Microchemical maps of Sr, Ca and Ba in the otolith, pectoral fin ray and dorsal scute of *A. sinensis*

### 2.3 中华鲟硬组织生境元素的含量变化

中华鲟 3 种硬组织中最终检出元素 (相对偏差 RSD 小于 10%) 有 Mg、Ti、V、Mn、Cu、Zn、Co、Sr、Ba 和 Ca。通过比较不同硬组织 10 种元

素自核心至边缘的含量变化, 结果发现, 对于各个硬组织而言, 其 Co、Sr 和 Ba 元素变化趋势较为一致。上述 3 种元素与同时测得的 Ca 元素的比值经 z-Score 标准化后发现, 除靠近边缘的部分外, 胸鳍条与耳石变化规律最为相似, 而背骨板则与二者间变化趋势相似度较低 (图 4)。

## 3 讨论

### 3.1 不同中华鲟硬组织的微结构特征

同其他洄游型鱼类一样, 中华鲟洄游模式和生境履历的反演一直是相关研究的重点和难点。由于代谢惰性且能够反应鱼体年龄信息等优势, 耳石常被用作研究洄游型鱼类生境履历的重要工具<sup>[18-19]</sup>。通过分析自耳石核心 (对应于孵化/产卵场) 至边缘 (对应于采样点) 生长轴上的元素“指纹”情况, 以及耳石核心剖面上各元素含量分布情况, 即可反演其生境或洄游履历<sup>[20-21]</sup>。值得注意的是, 核心作为反映鱼类孵化/产卵场特征的重要部分, 在耳石微化学分析中有着至关重要的作用, 即核心的确定和打磨暴露是整个耳石微化学研究的重要基础。虽然部分鱼类耳石中存在多个核心的情况, 即在传统耳石核心外围还分布有若干个与之结构相似的点 (次生核), 通常为耳石发育过程中晚于耳石核心后形成的类核心结构<sup>[22-23]</sup>。这些次生核虽然对鱼类耳石微化学分析有一定的干扰, 但一般通过微结构 (如轮纹相切) 等特征可以准确地鉴别出来。而作为软骨鱼类的中华鲟, 其耳石中多核心的情况与硬骨鱼类的次生核情况不同。通过观察孵化后 13 d 的中华鲟仔稚鱼个体耳石 (图版 II-1) 发现, 其早期结构即为多个独立的、分别具有核心的耳砂晶体颗粒, 这些耳砂颗粒互相堆叠, 在随后的发育过程中被更多的耳石组织包裹在一起 (图版 II-2), 最终形成了具有多个核心的耳石结构 (图版 II-3)。类似的情况在俄罗斯鲟 (*A. gueldenstadti*) 中也有发现<sup>[10]</sup>。

与耳石相比, 中华鲟背骨板和胸鳍条的结构相对简单些。但值得注意的是背骨板可以明显分为 2 层, 分别为外侧的透明层和内侧的不透明层。相似的情况在短吻鲟 (*A. brevirostrum*) 中也有发现, 因此, 可以认为这 2 层结构均独立反映了生境履历信息<sup>[24]</sup>。但各分层在中华鲟生长过程中是否同步形成尚未可知, 需要进一步的研

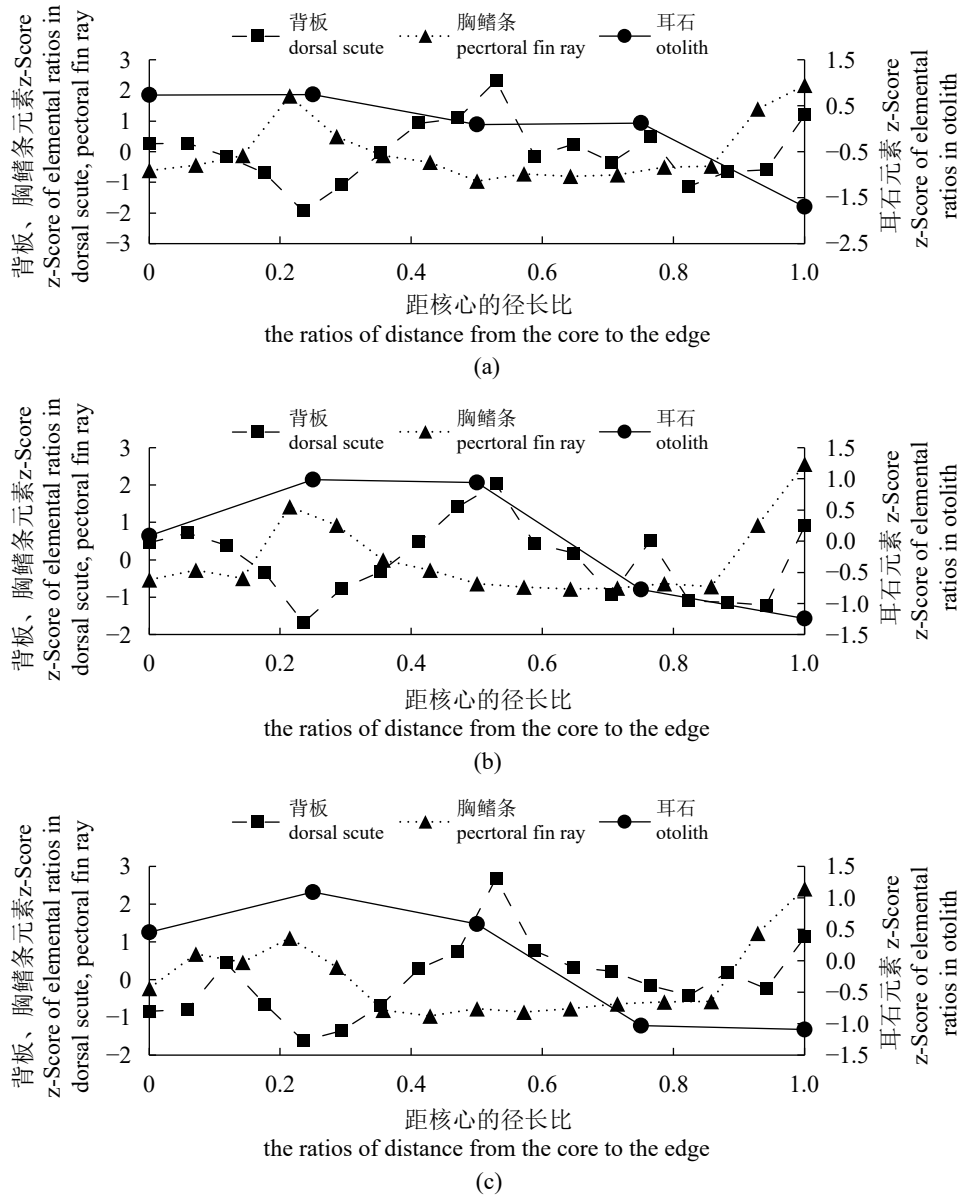


图 4 自核心至边缘的背骨板、胸鳍条(左轴)与耳石(右轴)Co/Ca(a)、Sr/Ca(b)和Ba/Ca(c)z-Score 分值变化  
 Fig. 4 Fluctuation of z-Score of Co/Ca (a), Sr/Ca (b) and Ba/Ca (c) along line transects from the core to the edge in the dorsal scute, pectoral fin ray (left axis) and otolith (right axis) of *A. sinensis*

究证实。与前 2 种硬组织相比，胸鳍条剖面上除了散布一些骨小管外，其余结构质地较为均一，不存在分层或多个核心。

### 3.2 不同中华鲟硬组织的微化学特征

鲟类耳石与硬骨鱼类在成分上较为一致，均为碳酸钙成分的文石和方解石结构<sup>[25]</sup>，因此也可以作为研究鲟类洄游生态学的重要材料。比较中华鲟其他 2 种硬组织背骨板与胸鳍条微化学特征，其中前者波动比较复杂，从 Ca 元素分布来看有一个明显的分割线(图 3)，而这也与背骨

板分层的现象相一致。与背板相比，胸鳍条的 Ca 值分布相对稳定(图 3)，与其质地较为致密、均一的情况相符(图 2)。三者微化学特征以胸鳍条和耳石 Sr、Ba(包括 Co)元素与 Ca 比值变化波动最为相似(图 4)，二者均表现为先上升后降低。对比之下，背骨板的以上 3 种元素比变化情况较为复杂，存在较多的波动。这应该与其内、外分层的结构特征相关。相似的情况在短吻鲟的背骨板微化学研究中也有发现<sup>[24]</sup>。比较以上三者微化学特征，以胸鳍条和耳石最为相似，而与背骨板有所不同。此外还需注意的是，中华鲟

耳石不同部位元素组成略有差异,幼鱼耳石中不同部位 Sr 和 Ba 元素含量不一致。考虑到中华鲟耳石是由结构松散、多个独立耳砂颗粒融合在一起的结构,这种不连续生长,或者生长不均质的情况很有可能是导致耳石不同部位元素含量存在差异的主要原因。

由此可见,中华鲟背骨板和耳石都不同程度地受到生理上的影响,出现元素特征分布不均、结构分层不连续等情况。与之相比,胸鳍条以其结构质地均一的特征在微化学研究方面更具有优势。

### 3.3 中华鲟3种硬组织微化学研究应用潜力的比较

已有报道证实耳石、胸鳍条、背骨板均可作为研究鲟类洄游生态学的重要材料<sup>[10,24,26]</sup>。中华鲟作为我国特有鲟类,目前世界上相关的研究尚属空白,因此,筛选出一个能够开展中华鲟洄游生态学的合适研究材料显得十分重要和迫切。为了解决以上难题,本研究初步探索了中华鲟上述3种硬组织结构和微化学特征。从微结构特征来看,3种硬组织各自有不同的特征。其中耳石和背骨板结构较为复杂,前者结构松散且存在多个次生核,后者则存在分层现象。与之相比胸鳍条结构则致密和均一。比较三者间的微化学特征,其中以耳石和胸鳍条较为一致,背骨板由于分层现象的存在与前二者变化趋势有所不同。此外,还需要注意的是上述3种硬组织的取样过程对鱼体造成的损伤也各不相同,其中以耳石损伤最大,需要对鱼进行致死解剖;其次为背骨板,会造成背部大面积创伤;而胸鳍条所造成的伤害最小,仅需取一小节样品即可,因此,鳍条常作为微化学研究中非致死的重要研究材料<sup>[14,27]</sup>。比较上述3种硬组织微化学分析的前处理过程发现,耳石加工过程最为繁琐,需要打磨至核心清晰暴露,对样品处理的技术要求较高,且无法通过进一步的打磨、抛光处理以进行其他分析研究。背骨板与胸鳍条的处理则比较简单,仅需处理出一个表面无明显划痕的剖面即可,而通过进一步的打磨、抛光处理,后两者可以处理成新的样品以用于其他分析。

此外,耳石在胚胎期形成,中华鲟胸鳍条和背骨板分别需要在孵化后第10和14天才形成<sup>[28]</sup>,相比之下,其他鲟类鳍条和背骨板在后期

才形成<sup>[29]</sup>。但 Phelps 等<sup>[26]</sup>证实,即使在孵化后第1天进行外源 Sr 元素标记,白鲟 (*Psephurus gladius*) 胸鳍条上依旧可以清晰地检测出 Sr 标记特征。同时,其他研究报道也证实了胸鳍条微化学特征可用于鲟类完整生境履历的反演<sup>[12,30-31]</sup>。因此,虽然中华鲟胸鳍条并不随卵孵化即开始形成,但其依旧可以反映完整的生境履历信息。至于中华鲟背骨板是否也有类似的特点,需要在今后的研究中深入论证。总之,在微化学研究方面,相比较于其他2种硬组织,中华鲟胸鳍条可能更具应用潜力和价值。

## 4 结论

中华鲟作为国家一级重点保护水生动物被誉为“水中的大熊猫”,一直以来备受关注。然而,由于其较长的生活史和复杂的生境履历,加之岌岌可危的资源现状,人们关于中华鲟洄游生态学的研究存在难度。本研究通过比较3种鲟类洄游生态学研究材料:耳石、背骨板和胸鳍条,发现三者均可以作为中华鲟微化学研究的材料。但是,综合考虑非致死性、前处理难度、微结构以及生境元素生物积累等特征,建议首选胸鳍条作为基于微化学分析来反演中华鲟洄游及生境履历的最佳硬组织材料。但由于受到样本数量的限制,本研究尚无法就中华鲟胸鳍条微化学一些机理性问题进行深入研究。在今后的工作中,在增加分析样本量进一步验证上述应用潜力的同时,还可以通过对比中华鲟成鱼标本以及养殖个体鳍条的微化学特征分析栖息地水环境元素在中华鲟鳍条中生物积累的规律和含量水平的相关关系。

### 参考文献 (References):

- [1] 陈细华. 鲟形目鱼类生物学与资源现状 [M]. 北京: 海洋出版社, 2007: 95-102.  
Chen X H. Biology and resources of Acipenseriformes fishes [M]. Beijing: China Ocean Press, 2007: 95-102 (in Chinese).
- [2] 王鲁海, 黄真理, 任家盈, 等. 基于年龄结构的中华鲟资源量估算方法 [J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1263-1272.  
Wang L H, Huang Z L, Ren J Y, et al. An age-structured population model of the Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(8): 1263-1272 (in Chinese).

- [3] 杜浩, 危起伟, 张辉, 等. 三峡蓄水以来葛洲坝下中华鲟产卵场河床质特征变化[J]. 生态学报, 2015, 35(9): 3124-3131.  
Du H, Wei Q W, Zhang H, *et al.* Changes of bottom substrate characteristics in spawning ground of Chinese sturgeon downstream the Gezhouba Dam from impounding of three gorge reservoir[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(9): 3124-3131(in Chinese).
- [4] 吴金明, 王成友, 张书环, 等. 从连续到偶发: 中华鲟在葛洲坝下发生小规模自然繁殖[J]. 中国水产科学, 2017, 24(3): 425-431.  
Wu J M, Wang C Y, Zhang S H, *et al.* From continuous to occasional: small-scale natural reproduction of Chinese sturgeon occurred in the Gezhouba spawning ground, Yichang, China[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(3): 425-431(in Chinese).
- [5] Zhuang P, Zhao F, Zhang T, *et al.* New evidence may support the persistence and adaptability of the near-extinct Chinese sturgeon[J]. *Biological Conservation*, 2016, 193: 66-69.
- [6] Jiang T, Yang J, Lu M J, *et al.* Discovery of a spawning area for anadromous *Coilia nasus* Temminck *et* Schlegel, 1846 in Poyang Lake, China[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2017, 33(2): 189-192.
- [7] Jiang T, Liu H B, Lu M J, *et al.* A possible connectivity among estuarine tapertail anchovy (*Coilia nasus*) populations in the Yangtze River, Yellow Sea, and Poyang Lake[J]. *Estuaries and Coasts*, 2016, 39(6): 1762-1768.
- [8] Liu H B, Jiang T, Yang J. Unravelling habitat use of *Coilia nasus* from the Rokkaku River and Chikugo River estuaries of Japan by otolith strontium and calcium[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2018, 37(6): 52-60.
- [9] Walsh C T, Gillanders B M. Extrinsic factors affecting otolith chemistry-implications for interpreting migration patterns in a diadromous fish[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2018, 101(6): 905-916.
- [10] Arai T, Miyazaki N. Otolith microstructure of the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstadti*[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2002, 82(4): 679-680.
- [11] Muhlfield C C, Marotz B, Thorrold S R, *et al.* Geochemical signatures in scales record stream of origin in west-slope cutthroat trout[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2005, 134(4): 945-959.
- [12] Allen P J, DeVries R J, Fox D A, *et al.* Trace element and strontium isotopic analysis of gulf sturgeon fin rays to assess habitat use[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2018, 101(3): 469-488.
- [13] Allen P J, Hobbs J A, Cech Jr J J, *et al.* Using trace elements in pectoral fin rays to assess life history movements in sturgeon: estimating age at initial seawater entry in Klamath River green sturgeon[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2009, 138(2): 240-250.
- [14] Tzadik O E, Peebles E B, Stallings C D. Life-history studies by non-lethal sampling: using microchemical constituents of fin rays as chronological recorders[J]. *Journal of Fish Biology*, 2017, 90(2): 611-625.
- [15] 陈婷婷, 姜涛, 李孟孟, 等. 长江南京江段长颌鲢生境履历的反演[J]. 水产学报, 2016, 40(6): 882-892.  
Chen T T, Jiang T, Li M M, *et al.* Inversion of habitat history for the long-jaw ecotype *Coilia nasus* collected from Nanjing section of the Yangtze River[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(6): 882-892(in Chinese).
- [16] Khumbanyiwa D D, Li M M, Jiang T, *et al.* Unraveling habitat use of *Coilia nasus* from Qiantang River of China by otolith microchemistry[J]. *Regional Studies in Marine Science*, 2018, 18: 122-128.
- [17] Walrath R. Standard scores[M]//Goldstein S, Naglieri J A. *Encyclopedia of Child Behavior and Development*. Boston: Springer, 2011.
- [18] Miles N G, Butler G L, Diamond S L, *et al.* Combining otolith chemistry and telemetry to assess diadromous migration in pinkeye mullet, *Trachystoma petardi* (Actinopterygii, Mugiliformes)[J]. *Hydrobiologia*, 2018, 808(1): 265-281.
- [19] Santana F M, Morize E, Labonne M, *et al.* Connectivity between the marine coast and estuary for white mullet (*Mugil curema*) in northeastern Brazil revealed by otolith Sr : Ca ratio[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2018, 215: 124-131.
- [20] Arai T, Chino N. Opportunistic migration and habitat use of the giant mottled eel *Anguilla marmorata* (Teleostei: Elopomorpha)[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 5666.
- [21] Chino K, McCarthy T K, Arai T. Analysis of fluvial migration of the Irish pollan *Coregonus autumnalis*,  
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- using Sr : Ca ratios of otolith[J]. [Journal of Applied Animal Research](#), 2018, 46(1): 609-612.
- [22] Xie S, Watanabe Y, Saruwatari T, *et al.* Growth and morphological development of sagittal otoliths of larval and early juvenile *Trachurus japonicus*[J]. [Journal of Fish Biology](#), 2005, 66(6): 1704-1719.
- [23] Xie S G, Watanabe Y. Transport-determined early growth and development of jack mackerel *Trachurus japonicus* juveniles immigrating into Sagami Bay, Japan[J]. [Marine and Freshwater Research](#), 2007, 58(11): 1048-1055.
- [24] Altenritter M E, Kinnison M T, Zydlewski G B, *et al.* Assessing dorsal scute microchemistry for reconstruction of shortnose sturgeon life histories[J]. [Environmental Biology of Fishes](#), 2015, 98(12): 2321-2335.
- [25] Pracheil B M, Chakoumakos B C, Feygenson M, *et al.* Sturgeon and paddlefish (Acipenseridae) sagittal otoliths are composed of the calcium carbonate polymorphs vaterite and calcite[J]. [Journal of Fish Biology](#), 2017, 90(2): 549-558.
- [26] Phelps Q E, Whitley G W, Tripp S J, *et al.* Identifying river of origin for age-0 *Scaphirhynchus* sturgeons in the Missouri and Mississippi rivers using fin ray microchemistry[J]. [Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences](#), 2012, 69(5): 930-941.
- [27] Clarke A D, Telmer K H, Shrimpton J M. Elemental analysis of otoliths, fin rays and scales: a comparison of bony structures to provide population and life-history information for the Arctic grayling (*Thymallus arcticus*)[J]. [Ecology of Freshwater Fish](#), 2007, 16(3): 354-361.
- [28] Ma J, Zhuang P, Kynard B, *et al.* Morphological and osteological development during early ontogeny of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray, 1835)[J]. [Journal of Applied Ichthyology](#), 2014, 30(6): 1212-1215.
- [29] Zhang X, Shimoda K, Ura A, *et al.* Developmental structure of the vertebral column, fins, scutes and scales in bester sturgeon, a hybrid of beluga *Huso huso* and sterlet *Acipenser ruthenus*[J]. [Journal of Fish Biology](#), 2012, 81(6): 1985-2004.
- [30] Sellheim K, Willmes M, Hobbs J A, *et al.* Validating fin ray microchemistry as a tool to reconstruct the migratory history of white sturgeon[J]. [Transactions of the American Fisheries Society](#), 2017, 146(5): 844-857.
- [31] Phelps Q E, Hupfeld R N, Whitley G W. Lake sturgeon *Acipenser fulvescens* and shovelnose sturgeon *Scaphirhynchus platorynchus* environmental life history revealed using pectoral fin-ray microchemistry: implications for interjurisdictional conservation through fishery closure zones[J]. [Journal of Fish Biology](#), 2017, 90(2): 626-639.



## Investigation into the microstructure and microchemical characteristics of the hard tissues of *Acipenser sinensis*

JIANG Tao<sup>1</sup>, WANG Chengyou<sup>2</sup>, DU Hao<sup>2</sup>, ZHANG Shuhuan<sup>2</sup>,  
LIU Hongbo<sup>1</sup>, WEI Qiwei<sup>2\*</sup>, YANG Jian<sup>1\*</sup>

(1. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China)

**Abstract:** Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) is an endemic, endangered and protected anadromous fish in China. This fish has been listed as a Category I nationally protected species in China and a critically endangered (CR) species of the International Union for Conservation of Nature (IUCN). Due to the restrictions by several special reasons of this species, e.g., long lifespan, complex migratory process, and precarious resource situation, it is quite difficult to objectively reveal the features of life history, and characteristics of distribution, and dynamics of habitat use (e.g., spawning/nursery site) by some traditional methods. Consequently, introducing more new innovative approaches is needed to achieve new breakthrough on research of migratory ecology and conservation for this species. In the present study, microchemical characteristics of three kinds of hard tissues of *A. sinensis* (i.e., otolith, dorsal scute, and pectoral fin ray) were studied comparatively by electron probe microanalyses (EPMA) and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICPMS) with their microstructure. The results show that otoliths of *A. sinensis* are loose in structure and contain small sand-like microcrystalline vaterite spherulites with independent core areas. In contrast, the dorsal scute is a stratified tissue while the pectoral fin ray is a relatively compact and uniform tissue. Viewed from the microchemical results of the three hard tissues, the analytical accuracy across all samples was high for Mg, Ti, V, Mn, Cu, Zn, Co, Sr, Ba and Ca with RSD<10%. The z-Scores of habitat element ratios for Co/Ca, Sr/Ca and Ba/Ca in both pectoral fin ray (-0.97-2.16, -0.78-2.56, -0.96-2.41) and otolith (-1.7-0.74, -1.24-0.98, -1.09-1.09) are consistent, while those z-Scores in the dorsal scute (-1.95-2.32, -1.68-2.03, -1.62-2.68) are fluctuative due to its stratification. At the same time, the microchemical maps of Sr, Ca and Ba in these three hard tissues revealed that pectoral fin ray and dorsal scute were uniform color/concentration while different parts of otolith showed different colors/concentrations. Based on the aforementioned findings and we consider practical needs from no lethality, difficulty of sampling and sample preparation process, tissular microstructure composition, and environmental element bioaccumulation. In the present study, the microstructure and microchemical characteristics of three kinds of hard tissues of *A. sinensis*, i.e., otolith, dorsal scute, and pectoral fin ray, were studied comparatively. The present study suggested that the pectoral fin ray is the best hard tissue material for microchemical study for reconstructing the history of the migration and life cycle of *A. sinensis*.

**Key words:** *Acipenser sinensis*; otolith; dorsal scute; pectoral fin ray; microstructure; microchemistry

**Corresponding authors:** WEI Qiwei. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn;

YANG Jian. E-mail: jiany@ffrc.cn

**Funding projects:** Research Fund of China Three-Gorges Project Corporation (201603073)